

**PREDIKSI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIVIRUS SENYAWA
GOLONGAN MONOTERPEN PADA *Mentha piperita* L. TERHADAP
RESEPTOR *MAIN PROTEASE* (6M2N) SEBAGAI TERAPI SARS-CoV-2
SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Oleh :
YUDINTYA AISYAH ERMANDY
NIM. 17930036**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2021**

**PREDIKSI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIVIRUS SENYAWA
GOLONGAN MONOTERPEN PADA *Mentha piperita* L. TERHADAP
RESEPTOR *MAIN PROTEASE* (6M2N) SEBAGAI TERAPI SARS-CoV-2
SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada :
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2021**

**PREDIKSI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIVIRUS SENYAWA
GOLONGAN MONOTERPEN PADA *Mentha piperita* L. TERHADAP
RESEPTOR *MAIN PROTEASE* (6M2N) SEBAGAI TERAPI SARS-CoV-2
SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Oleh :
YUDINTYA AISYAH ERMANDY
NIM. 17930036**

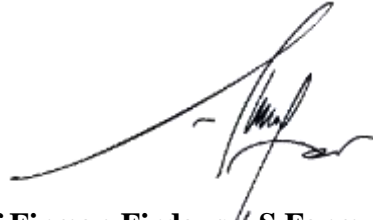
**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal : 18 Juni 2021**

Pembimbing I



**Prof.Dr.apr.Roihatul Muti'ah, M.Kes
NIP. 19800203 200912 2 003**

Pembimbing II



**apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed
NIP. 19920607 201903 1 017**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi**



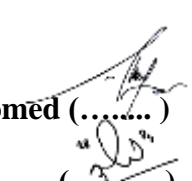



**apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm
NIP. 19761214 200912 1 002**

**PREDIKSI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIVIRUS SENYAWA
GOLONGAN MONOTERPEN PADA *Mentha piperita* L. TERHADAP
RESEPTOR *MAIN PROTEASE* (6M2N) SEBAGAI TERAPI SARS-CoV-2
SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Oleh :
YUDINTYA AISYAH ERMANDY
NIM. 17930036**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal : 18 Juni 2021**

Ketua Penguji	: apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed (.....) NIP. 19920607 201903 1 017	
Anggota Penguji	1. Dr. Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm NIP. 19830628 200912 2 004	
	2. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes NIP. 19800203 200912 2 003	
	3. Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd NIP. 19780317 20189201 1 128	

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi**



**apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm
NIP. 19761214 200912 1 002**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yudintya Aisyah Ermandy
NIM : 17930036
Program studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : Prediksi Toksisitas Aktivitas Antivirus Senyawa Golongan Monoterpen pada *Mentha piperita* L. Terhadap Reseptor *Main Protease* (6M2N) Sebagai Terapi SARS-CoV-2 Secara *In Silico*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 18 Juni 2021

Yang membuat pernyataan,



Yudintya Aisyah Ermandy
NIM. 17930036

MOTTO

Work hard in silence, let your success be your noise

...وَمَنْ يَتَوَكَّلْ عَلَى اللَّهِ فَهُوَ حَسْبُهُ....

“Dan barangsiapa yang bertawakkal kepada Allah, niscaya Allah akan mencukupkan (keperluan)nya” –QS.At-Talaq :3–

Do the best, let Allah SWT do the rest

**Hidup ini bukan tentang kamu sukses atau tidak, bukan menang atau kalah. Tapi hidup di dunia ini apakah kamu bertahan berjuang bergantung pada Allah dalam keadaan apapun juga
–Emha Ainun Najib–**

Don't compare yourself to others. There's no comparison between the sun and the moon. They shine when it's their time

Tidak mungkin orang yang datang kepada Allah SWT pulang dalam keadaan kecewa

Selama kedua orangtuaku ridha dan masih bisa tersenyum, duniaku akan baik-baik saja♥

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin. Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT beserta Nabi Muhammad SAW sehingga dapat melaksanakan pencarian ilmu dan dapat menyelesaikannya dengan baik.

Dengan rasa syukur yang mendalam, kupersembahkan tulisan karya ini kepada :

1. Kedua orang tuaku, Ayah Yudi Kurnain dan Mama Erma Alfayumi yang senantiasa menjadi penguat serta memberi dukungan yang terbaik dalam bentuk doa, ridha, semangat dan kasih sayang yang tak pernah putus, sehingga dapat menyelesaikan studi dengan baik. *Thankyou for being my anchor in this storm sea of life.*
2. Kakak laki-lakiku Yuditya Abudzar Ermandy beserta istrinya Tri Ajeng Christnawati yang memberi dukungan dan wejangan dunia perkuliahan. Serta kedua keponakanku Jasmine Aifa Ramadhani dan Gwen Arsyila Ermandy yang telah menjadi penghilang penat ketika pulang ke rumah.
3. Ibu Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes dan Bapak apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed selaku dosen pembimbing yang sangat memberikan arahan dan pengalaman yang berharga. Serta kepada Ibu Dr. Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm selaku penguji dan Bapak Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd selaku penguji agama yang telah banyak memberikan masukan.
4. Bapak Prof. Dr. apt. Siswandono, M.S yang telah memberikan lisensi aplikasi *Molegro Virtual Docker* sehingga saya mampu menyelesaikan penelitian dengan baik.
5. Bapak Yuwono, S.Sos selaku admin jurusan Farmasi yang sabar dan banyak membantu kapanpun saja selama menjalani proses perkuliahan.
6. Sahabat sejak jaman putih biru yang banyak mengisi cerita dan menjadi penghibur saat sedih dan terluka. Rere, Tita, Intan, Clar, Ella, May.
7. *My Unbiological Sister*, Mantika Safira Adlina dan Aninda Quinsy Aurentia yang banyak menemani dan menghibur saat kondisi terpuruk. Pendengar yang baik dan pemberi solusi dengan nasihat pedasnya.

8. Ciwi-ciwi “Rumahku Surgaku” Widhi Astuti, Adhin Muiza Keswanty, Ivana Ifadayanti, Arien Alvi Fathoniyah, Nurista Safa Normasilla yang banyak memberikan kehebohan, semangat, dan menjadi teman berbagi kisah kasih kehidupan perkuliahan.
9. Keluarga besar Rayon “Penyelamat” Dja’far Saifuddin yang memberi kesempatan dalam mengembangkan diri dan menjadi keluarga kedua selama menempuh studi di Malang.
10. Teman-teman Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang 2017 terutama “Keluarga Samawa” yang memberikan banyak warna selama menempuh perkuliahan. Serta teman-teman riset *in silico* COVID-19 yang memberi semangat dan saling menguatkan.
11. Kitmanul Asrori yang menemani dari awal, menjadi pendengar dan memberikan banyak pelajaran dan semangat ketika aku merasa gagal. *Thankyou for making everything better.*
12. Mahfirani Ayuningrum, Ami Fini Faqiha, Futna Naufa dan Felia Kurniasari yang menjadi teman diskusi dan berbagi ilmu selama masa perkuliahan.
13. Rahil Virginia Az Zahroh dan Walimatus Sya’diyah yang menjadi penggembira, pendengar keluh kesah dan teman berpetualang selama masa perkuliahan.
14. Diriku sendiri yang berusaha melawan rasa malas dan berjuang hingga di titik sekarang.
15. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Prediksi Toksisitas dan Aktivitas Antivirus Senyawa Golongan Monoterpen pada *Mentha piperita* L. terhadap Reseptor *Main protease* (6M2N) sebagai Terapi SARS-CoV-2 secara *In silico*”** ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT.

Penulis sadar bahwa skripsi ini tidak akan terwujud tanpa bantuan, pengarahan, dan motivasi dari berbagai pihak. Untuk itu, dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya, serta penghargaan yang tak terhingga kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes., Sp.Rad (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. dan apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu serta memberikan semangat tiada putus dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Kakak penulis serta sanak keluarga yang selalu memberikan semangat dan nasihat kepada penulis.
7. Semua rekan-rekan farmasi yang selalu memberikan motivasi kepada penulis.
8. Serta semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik secara materiil maupun moril.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan skripsi ini dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. *Aamiin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamualaikum Wr.Wb

Malang, 18 Juni 2021
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
LEMBAR PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
ABSTRAK	xviii
ABSTRACT	xix
مستخلص البحث.....	xx
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	9
1.3. Tujuan Penelitian	10
1.4. Manfaat Penelitian	10
1.4.1. Manfaat Akademik	10
1.4.2. Manfaat Praktis	10
1.5. Batasan Masalah.....	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1. Tanaman <i>Mentha piperita</i> L.....	12
2.1.1. Klasifikasi Tanaman	12
2.1.2. Morfologi Tanaman	13
2.1.3. Kandungan dan Manfaat Tanaman	14
2.1.4. Aktivitas Antivirus	16
2.2. COVID-19	17
2.2.1. Virus SARS-CoV-2	17
2.2.2. Penyebaran dan Penularan	19
2.2.3. Struktur, Genom, dan Taksonomi.....	22
2.3. Pemodelan Molekul.....	26
2.4. Molegro Virtual Docker	29
2.5. Reseptor <i>Main protease</i> (PDB ID 6M2N)	30
2.6. Obat Pembanding (Nelfinavir)	32
2.7. Studi Pendahuluan Prediksi Sifat Fisikokimia	34
2.8. Interaksi Obat-Reseptor.....	38
2.8.1. Ikatan Kovalen.....	38
2.8.2. Ikatan Ionik.....	38
2.8.3. Ikatan Ion-dipol dan Dipol-dipol	38
2.8.4. Ikatan Hidrogen	38
2.8.5. Ikatan Van der Waal's	39

2.8.6. Ikatan Hidrofobik	39
2.8.7. Transfer Muatan.....	39
2.9. Hukum Lima Lipinski	40
2.10. Toksisitas.....	41
2.11. Aplikasi Penunjang	41
2.11.1. Protein Data Bank(PDB)	41
2.11.2. <i>pkCSM Online Tool</i>	42
2.11.3. <i>SwissADME</i>	42
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS.....	43
3.1. Kerangka Konseptual	43
3.1.1. Bagan Kerangka Konseptual	43
3.1.2. Uraian Kerangka Konseptual.....	44
3.2. Hipotesis Penelitian.....	46
BAB IV METODE PENELITIAN	47
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	47
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian	47
4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	47
4.3.1. Variabel Penelitian.....	47
4.3.2. Definisi Operasional	48
4.4. Alat dan Bahan Penelitian	50
4.4.1. Alat	50
4.4.2. Bahan	50
4.4.2.1. Struktur Senyawa dan Pembanding Nelfinavir.....	50
4.4.2.2. Struktur Reseptor 6M2N.....	51
4.5. Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian	53
4.5.1. Skema Kerja Penelitian.....	53
4.5.2. Prosedur Penelitian	54
4.5.2.1. Preparasi Ligan	54
4.5.2.2. Preparasi Protein Reseptor.....	54
4.5.2.3. Penambatan Molecular Docking.....	54
4.5.2.4. Prediksi Toksisitas	55
4.6. Analisis Data.	55
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	57
5.1. <i>Molecular Docking</i> dan Analisis Asam Amino	58
5.2. Pengunduhan Target Protein	59
5.3. Preparasi Ligan dan Reseptor.....	60
5.4. Penentuan <i>Cavity</i>	66
5.5. Pengaturan Molegro Virtual Docking	68
5.6. Validasi Reseptor 6M2N	68
5.7. <i>Docking</i> Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> dan Nelfinavir pada Reseptor 6M2N	70
5.7.1. ... Hasil <i>Docking</i> Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> dan Nelfinavir pada Resptor 6M2N	70
5.7.2. Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino	73
5.8. Prediksi Toksisitas.....	82
5.9. Analisis Data Statistik	85

5.9.1. Uji Normalitas	86
5.9.2. Uji Kruskal-Wallis.....	87
5.9.3. Uji Mann-Whitney.....	88
BAB VI PENUTUP	90
6.1. Kesimpulan.....	90
6.2. Saran.....	90
DAFTAR PUSTAKA	92
LAMPIRAN.....	105

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Efek Antivirus dan Ekstrak <i>Peppermint</i>	16
Tabel 2.2	Hasil Studi Pendahuluan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> dan Obat Pembanding Nelfinavir.....	34
Tabel 2.3	Hukum 5 Lipinski.....	40
Tabel 4.1	Parameter Uji Fisikokimia.....	48
Tabel 4.2	Parameter Uji Sitotoksik.....	48
Tabel 4.3	Parameter <i>Docking</i>	49
Tabel 5.1	Hasil Penentuan Energi minimal (kcal/mol) Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> dengan MMFF94 pada Aplikasi <i>Chem 3D Pro 12.0</i>	62
Tabel 5.2	Hasil <i>code SMILES</i> Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> dan Nelfinavir dengan <i>ChemDraw Ultra 12.0</i>	66
Tabel 5.3	Hasil Validasi Reseptor 6M2N.....	69
Tabel 5.4	Hasil <i>docking</i> senyawa monoterpen <i>Peppermint</i> dan Senyawa Pembanding (nelfinavir) dengan Reseptor 6M2N.....	71
Tabel 5.5	Asam Amino yang Terlibat dalam Ikatan Hidrogen pada Enzim 6M2N.....	76
Tabel 5.6	Asam Amino yang Terlibat dalam Ikatan Sterik pada Enzim 6M2N.....	76
Tabel 5.7	Prediksi Toksisitas Menggunakan <i>Protox Online Tool</i> dan <i>pkCSM Onlinet Tool</i>	83
Tabel 5.8	Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk rerank score</i> senyawa monoterpen <i>Peppermint</i> pada reseptor 6M2N.....	86
Tabel 5.9	Hasil uji <i>Kruskal-Wallis rerank score</i> senyawa monoterpen <i>Peppermint</i> pada reseptor 6M2N.....	87
Tabel 5.10	Hasil uji <i>Mann-Whitney rerank score</i> senyawa monoterpen <i>Peppermint</i> pada reseptor 6M2N.....	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Ilustrasi Skema Hibrida <i>Peppermint</i>	13
Gambar 2.2	Tanaman <i>Peppermint</i> (<i>Mentha piperita</i> L.).....	14
Gambar 2.3	Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri <i>Peppermint</i> (A) <i>limonene</i> , (B) <i>cineole</i> , (C) <i>menthone</i> , (D) <i>menthofuran</i> , (E) <i>isomenthone</i> , (F) <i>menthylacetate</i> , (G) <i>isopulegol</i> , (H) <i>menthol</i> , (I) <i>pulegone</i> dan (J) <i>carvone</i>	15
Gambar 2.4	Sejarah Penamaan Virus Corona dan Penyakitnya.....	19
Gambar 2.5	Struktur <i>Coronavirus</i>	23
Gambar 2.6	Genom SARS-CoV dan MERS-CoV.....	24
Gambar 2.7	Perbedaan struktur SARS-CoV dengan SARS-CoV-2.....	25
Gambar 2.8	Uji Kesamaan Nukleotida SARS-CoV-2 dengan Coronavirus Lain yang Diketahui.....	25
Gambar 2.9	Teori <i>Lock and Key</i> (A) dan <i>Induced Fit</i> (B).....	27
Gambar 2.10	Pembelahan Poliprotein pp1a dan pp1ab oleh Mpro.....	31
Gambar 4.1	Struktur Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> (A) <i>limonene</i> , (B) <i>cineole</i> , (C) <i>menthone</i> , (D) <i>menthofuran</i> , (E) <i>isomenthone</i> , (F) <i>menthylacetate</i> , (G) <i>isopulegol</i> , (H) <i>menthol</i> , (I) <i>pulegone</i> dan (J) <i>carvone</i>	51
Gambar 4.2	Struktur Senyawa Pembanding Nelfinavir.....	51
Gambar 4.3	Reseptor <i>Main protease</i> (Mpro) COVID-19 (PDB ID 6M2N).....	52
Gambar 5.1	Hasil Pengunduhan Protein Target <i>Main Protease</i> (Mpro) PDB ID 6M2N.....	59
Gambar 5.2	Hasil penggambaran struktur dua dimensi senyawa monoterpen <i>Peppermint</i> menggunakan <i>Chem Bio Draw Ultra 12</i> (A) <i>limonene</i> , (B) <i>cineole</i> , (C) <i>menthone</i> , (D) <i>menthofuran</i> , (E) <i>isomenthone</i> , (F) <i>menthylacetate</i> , (G) <i>isopulegol</i> , (H) <i>menthol</i> , (I) <i>pulegone</i> , (J) <i>carvone</i> dan (K) nelfinavir.....	60

Gambar 5.3	Hasil penggambaran struktur tiga dimensi senyawa monoterpen <i>Peppermint</i> menggunakan <i>Chem Bio 3D Ultra 12.0</i> (A) <i>limonene</i> , (B) <i>cineole</i> , (C) <i>menthone</i> , (D) <i>menthofuran</i> , (E) <i>isomenthone</i> , (F) <i>menthylacetate</i> , (G) <i>isopulegol</i> , (H) <i>menthol</i> , (I) <i>pulegone</i> , (J) <i>carvone</i> dan (K) <i>nelfinavir</i>	61
Gambar 5.4	Reseptor 6M2N.....	65
Gambar 5.5	Hasil Deteksi Lubang (<i>Cavity</i>) pada Reseptor 6M2N (A) <i>cavity</i> secara keseluruhan, (B) <i>cavity 1</i> , (C) <i>cavity 2</i> , (D) <i>cavity 3</i> , (E) <i>cavity 4</i> , (F) <i>cavity 5</i>	67
Gambar 5.6	Bentuk Tiga dimensi Interaksi Antara Senyawa <i>Peppermint</i> dan Senyawa Pembanding (<i>Nelfinavir</i>) dengan Asam Amino Reseptor 6M2N.....	74
Gambar 5.7	Pose ikatan senyawa terbaik (<i>menthylacetate</i>) dengan obat pembanding (<i>nelfinavir</i>).....	75
Gambar 5.8	Hasil interaksi asam amino antara reseptor 6M2N dengan (A) natif ligan (B) <i>limonene</i> , (C) <i>cineole</i> , (D) <i>menthone</i> , (E) <i>menthofuran</i> , (F) <i>isomenthone</i> , (G) <i>menthylacetate</i> , (H) <i>isopulegol</i> , (I) <i>menthol</i> , (J) <i>pulegone</i> , (K) <i>carvone</i> , (L) <i>nelfinavir</i>	81

DAFTAR SINGKATAN

2019-nCoV	: <i>2019 novel coronavirus</i>
3CL _{pro}	: <i>3-Chymotrypsin-Like Protease</i>
ACE2	: <i>Angiotensin Converting Enzyme 2</i>
CFR	: <i>Case Fatality Rate</i>
COVID-19	: <i>Coronavirus Disease 19</i>
CoV	: <i>Coronavirus</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EO	: <i>Essential Oil</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donors</i>
HR1	: <i>Hepeptide Repeat 1</i>
HR2	: <i>Hepeptide Repeat 2</i>
HSV-1	: <i>Herpes Simplex Virus type 1</i>
HSV-2	: <i>Herpes Simplex Virus type 2</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin 1 Beta</i>
kb	: <i>Kilobit</i>
LD ₅₀	: <i>Lethal Dose 50</i>
LTB4	: <i>Leukotrien B4</i>
MERS-CoV	: <i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
M _{pro}	: <i>Main protease</i>
mRNA	: <i>messenger RNA</i>
MVD	: <i>Molecular Virtual Docker</i>
nm	: <i>Nanometer</i>
ORF	: <i>Open Reading Frame</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
PL _{pro}	: <i>Papain like Protease</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
RBD	: <i>Receptor Binding Domain</i>

RdRp	: <i>RNA-dependent RNA polymerase</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SARS-CoV-2	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2</i>
SARS-CoV	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
SAW	: <i>Shallahu Alayhi Wa Sallam</i>
SWT	: <i>Subhanahu Wa Ta'ala</i>
PSA	: <i>Polar Surface Area</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil Validasi Reseptor.....	105
Lampiran 2	Hasil <i>Docking</i>	106
Lampiran 3	Hasil Prediksi Toksisitas.....	107
Lampiran 4	Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk Rerank Score</i> Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> pada Reseptor 6M2N.....	110
Lampiran 5	Hasil Uji <i>Kruskall-Wallis Rerank Score</i> Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> pada Reseptor 6M2N.....	110
Lampiran 6	Hasil Uji <i>Mann-Whitney Rerank Score</i> Senyawa Monoterpen <i>Peppermint</i> pada reseptor 6M2N.....	111

ABSTRAK

Ermandy, Y.A. 2021. Prediksi Toksisitas dan Aktivitas Antivirus Senyawa Golongan Monoterpen pada *Mentha piperita* L. Terhadap Reseptor *Main Protease* (6M2N) Sebagai Terapi SARS-CoV-2 Secara *In Silico*. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing (I) : Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes

(II) : apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed

Main protease (Mpro) merupakan protein non-struktural pada SARS-CoV-2. Protein tersebut bertanggung jawab pada proses translasi dan replikasi virus. *Mentha piperita* L. atau *Peppermint* merupakan tanaman herbal aromatik yang memiliki sifat farmakologis spektrum luas salah satunya sebagai antivirus. Senyawa monoterpen merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam *Peppermint*. Senyawa monoterpen pada minyak atsiri *Peppermint* menunjukkan aktivitas antivirus dengan cara menghambat replikasi virus dan dapat bertindak sinergis atau mempotensiasi agen antivirus lain untuk meredakan gejala COVID-19. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi toksisitas serta memprediksi aktivitas senyawa terhadap reseptor *Main protease* (PDB ID 6M2N). Sebelumnya, telah dilakukan prediksi sifat fisikokimia menggunakan aplikasi *SwissADME*. Sifat fisikokimia mengacu pada Hukum Lima Lipinski. Hasil menunjukkan semua senyawa monoterpen *Peppermint* memenuhi Hukum Lima Lipinski dengan hasil masing-masing 0 kesalahan. Selanjutnya prediksi toksisitas dilakukan menggunakan aplikasi *pkCSM Online Tools* dan *Protox Online Tools*. Hasil nilai LD₅₀ dan klasifikasi kelas toksisitas digolongkan menurut GHS. Senyawa *isopulegol* memiliki LD₅₀ paling tinggi yaitu 5000 mg/kg dan tergolong dalam kelas 5. Prediksi aktivitas senyawa dilakukan menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker* (MVD). Reseptor 6M2N dikatakan valid, sebab mempunyai nilai RMSD <2 Å. *Rerank score* (RS) yang paling rendah dan lebih baik dari obat pembanding yaitu pada senyawa *menthylacetate* dengan RS sebesar -73,338 kkal/mol. Senyawa monoterpen *Peppermint* berinteraksi dengan reseptor Mpro SARS-CoV-2 (6M2N) pada *cavity* 4, dengan ini diprediksi memiliki potensi menghambat reseptor Mpro SARS-CoV-2. Sehingga, senyawa monoterpen *Peppermint* dapat direkomendasikan untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat obat antivirus.

Kata Kunci : Antivirus, *main protease*, *molecular docking*, *Peppermint*.

ABSTRACT

Ermandy, Yudintya Aisyah. 2021. The Prediction of Toxicity and Antiviral Activity in Monoterpene Compound of *Mentha piperita* L. Towards the *Main Protease* Receptor (6M2N) as a SARS-CoV-2 Therapy using *In Silico* Approach. Undergraduate Thesis. Department of Pharmacy. Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Advisors (I) : Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes
(II) : apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed

Main protease (Mpro) is a nonstructural protein in SARS-CoV-2. This protein has a crucial role in the virus replication and translation process. *Mentha piperita* L. or *Peppermint* is an aromatic herb that contains a wide spectrum of pharmacological properties, and one of them is being an antiviral. Monoterpene is one of the compounds that Peppermint contains. The monoterpene compound found in essential oil of peppermint indicates an antiviral activity by inhibiting the virus replication, and it can act synergically and potentiate other antiviral agents to reduce the COVID-19 symptoms. This study aims to predict the toxicity and compound activities toward the *Main protease* (PDB ID 6M2N) receptor. Beforehand, the physicochemical properties prediction has been conducted using *SwissADME* application. The physicochemical properties are analyzed using the Lipinski's Rule of Five. The results indicate that all monoterpene compounds of Peppermint have met the requirements of the Lipinski's Rule of Five, with zero violation for each. Next, the toxicity prediction is performed through the use of *pkCSM* Online Tools and *Protox* Online Tools. The score result of LD₅₀ and the classification of toxicity class are made based on GHS. The *isopulegol* compound has the highest LD₅₀, which is 5000 mg/kg, and it is categorized into class 5. The compound activity prediction is performed using *Molegro Virtual Docker* (MVD) application. The 6M2N receptor is considered valid since it shows that the RMSD < 2Å. The lowest Rerank score (RS) and better than the comparison drug is found on the *menthylacetate* compound, with RS value is -73,338 kcal/mol. Monoterpene compounds of Peppermint interact with the Mpro receptor of SARS-CoV-2 (6M2N) in cavity 4, so it can be predicted have potential to inhibit the Mpro receptor of SARS-CoV-2. Thus, monoterpene compounds of Peppermint can be recommended for further development as an antiviral drug candidate.

Keywords: Antiviral, Main Protease, Molecular Docking, Peppermint.

مستخلص البحث

إرمندي، يدنتيا عائشة، ٢٠٢١، إمكانية نشاط مضادة الفيروسات من مركبات مونوتربين في نبات نعناع فلفلي على مستقبل ببتداز رئيسي (6M2N) كعلاج للسلارس كورونا - ٢ في السيليكون. البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.

المشرف الأول: أ. د. رائحة المطيعة، الماجستير.

المشرف الثاني: ألف فرمان فردوسي، الماجستير.

يعتبر ببتداز رئيسي بروتين غير هيكلي في فيروس السلارس كورونا - ٢. تلك البروتينات مسؤولة عن عملية تنقل واستنساخ الفيروسات. نبات النعناع الفلفلي هو نبات العشبية العطرية التي لها الخصائص الدوائية بالطيف الواسع منها مضادة الفيروسات. مركب مونوتربين هو من المركبات الموجودة في النعناع. مركب مونوتربين في الزيوت العطرية للنعناع أظهر نشاط مضادة الفيروسات عن طريق تثبيط النسخ المتماثل الفيروسي، ويمكن أن تعمل بشكل تآزري أو تقوية عوامل مضادة الفيروسات الأخرى لتخفيف أعراض كوفيد-١٩. يهدف هذا البحث إلى التنبؤ بالسمية وكذلك التنبؤ بنشاط المركب على مستقبل ببتداز رئيسي (PDB ID 6M2N). وقد تم القيام بالتنبؤ في الخصائص الفيزيائية الكيميائية باستخدام تطبيقات *SwissADME*. الخصائص الفيزيائية الكيميائية تعتمد على القوانين الخمسة ليبنسكي. وأظهرت النتائج أن جميع مركبات مونوتربين (أحادية التربينية) من نبات النعناع استوفى القوانين الخمسة ليبنسكي معنتيجة الصفر، أي دون أخطاء لكل منها. وعلاوة على ذلك، تم التنبؤ في السمية باستخدام أداة *pkCSM Online Tools* و *Protox Online Tools*. ونتيجة قيمة LD_{50} وتصنيف فئات السمية و GHS . مركب إسوفوليغال لديه أعلى قيمة LD_{50} وهي ٥٠٠ ملغم / كغ وينتمي إلى الفئة الخامسة. يتم التنبؤ في نشاط المركب باستخدام تطبيقات *Molegro Virtual Docker (MVD)*. ويحكم مستقبل 6M2N بأنها صالحة، لأن لديها قيمة $RMSD < 2 \text{ \AA}$. أدنى درجة إعادة ترتيب النتائج هي في مركب منتيل استات بمقدار - ٧٣.٣٣٨ ككال / مول.

الكلمات الرئيسية: مضادة الفيروسات، ببتداز رئيسي، الالتحام الجزيئي، النعناع

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Sepanjang akhir tahun 2019 hingga akhir tahun 2020, masyarakat di berbagai belahan dunia menerima dampak dari penyakit COVID-19. Menurut WHO (2020), COVID-19 disebabkan oleh infeksi virus baru golongan coronavirus yang diberi nama SARS-CoV-2. Hingga saat ini, banyak sekali penelitian yang dilakukan untuk mengetahui epidemiologi dan patofisiologi virus tersebut (Desai *et al.*, 2020).

Dalam waktu 1 bulan, SARS-CoV-2 telah menyebar secara masif ke seluruh 34 provinsi di China. Jumlah kasus yang terkonfirmasi tiba-tiba meningkat, dengan ribuan kasus baru terdiagnosis setiap harinya. Menurut studi retrospektif, permulaan kasus diketahui terjadi pada 8 Desember 2019. Pada tanggal 20 Januari 2020, WHO menyatakan wabah virus corona baru sebagai darurat kesehatan masyarakat yang menjadi perhatian Internasional. Pada 11 Februari 2020, Komite Internasional tentang Taksonomi Virus menyebut virus corona baru sebagai SARS-CoV-2 dan WHO menyebut penyakit tersebut sebagai COVID-19 (Gorbalenya *et al.*, 2020).

Virus SARS CoV-2 yang pertama kali teridentifikasi di Wuhan, China pada akhir 2019 kemudian kasus serupa dilaporkan sangat cepat di berbagai penjuru dunia. Analisis genom mengungkapkan bahwa SARS-CoV-2 secara filogenetik memiliki kaitan erat dengan virus yang menginfeksi kelelawar. Oleh karena itu

kelelawar memungkinkan menjadi reservoir primer (Deng and Peng., 2020 ; Shereen *et al.*, 2020).

Jumlah kasus COVID-19 di seluruh dunia per tanggal 29 Juni 2021 mencapai angka 181.007.816 dengan kasus kematian sebanyak 3.927.222 dan angka kematian sebesar 2,17%. Sementara itu, COVID-19 pertama kali terkonfirmasi di Indonesia pada 2 Maret 2020 dan jumlah kasus COVID-19 di Indonesia per tanggal 29 Juni 2021 mencapai angka 2.135.998 dengan kasus kematian sebanyak 57.561. *Case fatality rate* (CFR) atau angka kematian di Indonesia per 29 Juni 2021 termasuk tinggi, yakni mencapai angka 2,69%, yang mana lebih tinggi dari angka kematian di seluruh dunia (2,69% vs 2,17%) (WHO, 2021).

Coronavirus memiliki diameter antara 65-125 nm, mengandung RNA untai tunggal sepanjang 26-32 kb) dan tergolong ke dalam 4 subkelas, yakni alfa (α), beta (β), gamma (γ), dan delta (δ) coronavirus. (Hu *et al.*, 2020 ; Shereen *et al.*, 2020). Secara struktural SARS-CoV-2 tersusun dari 5 struktural protein, salah satu yang berperan yaitu protein Spike (S). Protein S pada SARS-CoV-2 berperan sebagai penginduksi utama sistem imun sel inang. Protein S memfasilitasi masuknya virus dengan cara berikatan dengan ACE2 pada sel inang dan menginisiasi infeksi. Salah satu strategi yang dapat diterapkan untuk meneliti senyawa yang berpotensi sebagai antivirus yakni dengan cara mengetahui informasi genom dan karakteristik patologis yang berbeda pada virus untuk mengembangkan obat baru (Hoffmann *et al.*, 2020 ; Wu, C *et al.*, 2020).

Secara struktural, SARS-CoV-2 terdiri dari 5 protein yaitu protein spike, envelope, hemagglutinin esterase, nukleokapsid dan protein membran. Di samping 5 protein struktural di atas, patogenesis SARS-CoV-2 juga ditentukan oleh protein-protein non-struktural, salah satunya adalah Mpro. Mpro adalah protein non-struktural yang menjadi protein target potensial dalam rangka menemukan senyawa obat yang dapat menghambat proses replikasi SARS-CoV-2. Mpro (PDB ID : 6M2N) merupakan enzim kunci dalam SARS-CoV-2 yang berperan penting dalam replikasi dan transkripsi virus, yang menjadikannya sebagai target obat yang menjanjikan untuk virus ini. Jika Mpro dihambat, maka akan mengganggu jalannya replikasi virus dalam tubuh (Jin *et al.*, 2020). 6M2N sangat penting untuk pematangan proteolitik virus dan telah diteliti sebagai protein target potensial untuk mencegah penyebaran infeksi dengan menghambat pembelahan poliprotein virus. Protease mewakili target potensial untuk penghambatan replikasi CoV (Khaerunnisa dkk., 2020).

Serangkaian intervensi medis telah dilakukan untuk mengobati pasien dengan indikasi medis infeksi SARS-CoV-2. Namun, sebagian besar terapi ini tidak dirancang khusus untuk mengobati COVID-19, melainkan untuk mengobati penyakit sebelumnya yang memiliki gejala mirip COVID-19 (Yan *et al.*, 2020). Hingga saat ini masih belum ada opsi terapi yang tersedia untuk menyembuhkan infeksi yang disebabkan oleh SARS CoV-2. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu agen terapi yang potensial dan spesifik menarget penyakit COVID-19 (Silva *et al.*, 2020).

Agan terapi potensial yang dapat digunakan tidak hanya berasal dari obat-

obatan sintetis atau bahan kimia. Tinjauan saat ini menekankan pada berbagai tanaman obat yang berpotensi dipertimbangkan sebagai bagian dari formulasi atau digunakan dengan aman dalam pencegahan dan manajemen penyakit menular seperti COVID-19 (Desai *et al.*, 2020). Tanaman obat telah mendapat perhatian lebih karena manfaat kesehatannya sejak zaman kuno (Xiao, 2016). Kandungan senyawa aktif pada tanaman terbukti digunakan sebagai pengobatan penyakit yang disebabkan oleh mikroba. Berbagai penelitian menyebutkan bahwa senyawa bioaktif pada tanaman memiliki banyak aktivitas, salah satunya antivirus. Berdasarkan hal tersebut, maka tanaman obat dianggap sebagai sumber yang baik sebagai antivirus SARS-CoV-2 (Borkotoky and Manidipa, 2020).

Saat ini, penelitian mengenai senyawa aktif tanaman menawarkan solusi potensial untuk COVID-19 melalui pengembangan vaksin dan antibodi dengan biaya rendah untuk terapi, profilaksis dan diagnosis. Secara khusus, antibodi buatan yang berasal dari tanaman akan diproduksi dan disetujui untuk digunakan manusia dalam jangka pendek. Setidaknya, dua perusahaan telah mengumumkan pengembangan vaksin buatan yang berasal dari tanaman untuk mengatasi virus SARS-CoV-2 (Rosales and Mendoza, 2020). Bukti klinis dari berbagai penelitian tanaman herbal dalam pengobatan SARS-CoV-2 telah menunjukkan hasil yang signifikan dan mendukung gagasan bahwa obat herbal memiliki efek menguntungkan dalam pengobatan dan pencegahan penyakit epidemi (Yang *et al.*, 2020).

Tanaman obat ini dapat dianggap sebagai sumber bahan yang berharga yang dapat digunakan dalam pengembangan obat (Li *et al.*, 2012). Berdasarkan laporan

WHO, negara-negara maju telah menggunakan tanaman obat untuk terapi klinis (Ahmad *et al*, 2016). Obat dari bahan alam memiliki efek samping yang rendah dan aman, sumber bahannya dapat diperoleh dengan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan di sekitar kita (Katno dan Pramono, 2017).

Tumbuhan obat merupakan ayat kauniyah Allah SWT, dalam Al-Qur'an sendiri terdapat ayat-ayat yang menyebutkan nama-nama tumbuhan dan buah-buahan secara eksplisit. Penyebutan tersebut tentu bertujuan agar umat manusia bisa memanfaatkan berbagai macam tumbuhan yang mempunyai khasiat tertentu dalam mengobati suatu penyakit. Sesuai dengan Firman Allah SWT dalam QS. Asy-Syu'ara' ayat 7 yang berbunyi :

لَوْلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara' : 7)

Menurut Shihab (2002), dengan berusaha merenungi dan mengamati mengamati ciptaan Allah SWT di bumi ini, niscaya manusia akan dapat merasakan manfaat dari tumbuh-tumbuhan yang ada di bumi. Pada dasarnya semua penyakit berasal dari Allah SWT, maka hanya dengan seizin Allah penyakit tersebut dapat disembuhkan. Akan tetapi, kesembuhan tersebut tentunya harus diiringi dengan ikhtiar yang maksimal (Hestina, 2020).

Hal tersebut sesuai dengan Sabda Rasulullah SAW :

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ جَعْفَرٍ حَدَّثَنَا شُعْبَةُ عَنْ زَيْدِ بْنِ عِلَاقَةَ عَنْ أُسَامَةَ بْنِ شَرِيكَ قَالَ أَتَيْتُ النَّبِيَّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ وَأَصْحَابُهُ عِنْدَهُ كَأَنَّمَا عَلَى رُءُوسِهِمُ الطَّيْرُ قَالَ فَسَلَّمْتُ عَلَيْهِ وَقَعَدْتُ قَالَ فَجَاءَتْ الْأَعْرَابُ فَسَأَلُوهُ فَقَالُوا يَا رَسُولَ اللَّهِ تَتَدَاوَى قَالَ نَعَمْ تَدَاوَوْا فَإِنَّ اللَّهَ لَمْ يَصْنَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ دَوَاءً غَيْرَ دَاءٍ وَاحِدٍ الْهَرَمُ قَالَ وَكَانَ أُسَامَةُ حِينَ كَبِرَ يَقُولُ هَلْ تَرَوْنَ لِي مِنْ دَوَاءٍ الْآنَ قَالَ وَسَأَلُوهُ عَنْ أَشْيَاءَ هَلْ عَلَيْنَا حَرَجٌ فِي كَذَا وَكَذَا قَالَ عِبَادَ اللَّهِ وَضَعَ اللَّهُ الْحَرَجَ إِلَّا أَمْرًا اقْتَضَى أَمْرًا مُسْلِمًا ظُلْمًا فَذَلِكَ حَرَجٌ وَهَلْكَ قَالُوا مَا خَيْرٌ مَا أُعْطِيَ النَّاسُ يَا رَسُولَ اللَّهِ قَالَ خُلُقٌ حَسَنٌ

Artinya : Telah menceritakan kepada kami Muhammad bin Ja'far Telah menceritakan kepada kami Syu'bah dari Zaid bin Ilaqah dari Usamah bin Syarik ia berkata; Saya mendatangi Nabi shallallahu 'alaihi wasallam sementara para sahabatnya berada di sisi beliau, sepertinya di atas kepala-kepala mereka terdapat burung. Kemudian saya mengucapkan salam atasnya dan duduk. Setelah itu, datanglah orang-orang A'rab dan bertanya kepada beliau, "Wahai Rasulullah, haruskah kami berobat?" beliau menjawab, "Ya, karena Allah tidak pernah menurunkan penyakit, kecuali Dia juga menurunkan obatnya, kecuali untuk satu penyakit, yaitu kepikunan." Dan Usamah, ketika usianya telah lanjut ia berkata, "Apakah sekarang kalian mendapati obat untukku?" kemudian orang-orang pun bertanya kepada beliau mengenai berbagai hal, "Apakah kami berdosa jika berobat dengan ini dan itu?" maka beliau pun menjawab: "Wahai para hamba Allah, sesungguhnya Allah telah menghilangkan dosa, kecuali seorang yang menuntut seorang muslim dengan zhalim, itulah dosa dan kehancuran." Mereka bertanya lagi, "Sesuatu apakah yang paling baik yang diberikan kepada manusia?" beliau menjawab: "Yaitu akhlak yang baik." (HR. Ahmad No. 177726).

Tanaman merupakan salah satu sumber senyawa aktif pengobatan yang sudah digunakan secara luas untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme. Ada banyak senyawa bioaktif yang dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antijamur, antibakteri, dan antivirus. Produk alami yang sudah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antivirus dapat dijadikan sebagai titik awal untuk mencari kandidat senyawa bioaktif yang berpotensi untuk mengatasi SARS-CoV-2. *Molecular docking* dapat digunakan untuk memprediksi bagaimana protein (reseptor) berinteraksi dengan senyawa bioaktif (ligan) (Tallei *et al.*, 2020).

Peppermint atau mint (*Mentha piperita* L.), ramuan aromatik dari Famili Lamiaceae (Labiatae), merupakan hibrida alami antara spearmint (*Mentha spicata* L.) dan mint air (*Mentha aquatic* L.) (Khalil *et al.*, 2015). Anggota genus mint dicirikan oleh minyak atsiri yang sangat penting. Olahan *Peppermint* dibudidayakan terutama untuk minyak esensial, yang diperoleh dengan distilasi dari daun yang baru digiling. *Peppermint Oil* terdiri dari kombinasi *menthol* dan *menthone* dengan beberapa konstituen minor lainnya, termasuk *pulegone*, *menthofuran* dan *limonene*, dan komposisi kimianya dapat bervariasi dengan kematangan tanaman, wilayah geografis dan kondisi pemrosesan (Riachi and De Maria, 2015).

Minyak mint dalam bentuk ekstrak memiliki berbagai macam ester terutama *menthylacetate* dan monoterpen yang menghasilkan aroma dan *flavor* (minty) yang bermanfaat untuk pernafasan. Penelitian *in vitro* dan studi klinis menunjukkan potensi terapi herbal aromatik dalam pengobatan penyakit pernafasan. Herbal aromatik memiliki sifat farmakologis spektrum luas dan digunakan sebagai obat tradisional. *Mentha piperita* (*Peppermint*) mengandung *menthol* dan menunjukkan sifat antibakteri dan antivirus serta efek antitusif (Anwari *et al.*, 2019).

Senyawa pada minyak atsiri *Peppermint* telah diskriminasi terhadap beberapa virus patogen, termasuk HSV-1, HSV-2, influenzadan infeksi virus pernapasan lainnya (Loolaie *et al.*, 2017). Minyak atsiri *Peppermint* (*limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone*) telah menjanjikan sebagai agen antivirus melawan beberapa virus patogen. Dalam sebuah penelitian, *menthol* telah dilaporkan dapat menekan

produksi mediator inflamasi IL-1 β , LTB4 dan PGE2 pada monosit manusia yang dirangsang dengan LPS dan *carvone* dapat meningkatkan respon imun tubuh terhadap virus. Penelitian lain juga menemukan bahwa *limonene* dapat menghambat sintesis DNA dan proliferasi dalam sel mononuklear (Cosentino *et al.*, 2009).

Minyak atsiri *Peppermint* yang merupakan sumber monoterpen menunjukkan aktivitas antivirus terhadap SARS-CoV. Senyawa monoterpen *Peppermint* memiliki kemampuan untuk menghentikan replikasi SARS-CoV dan dapat digunakan untuk terapi SARS-CoV-2 karena kesamaan materi genetiknya (Patne *et al.*, 2020). Komponen minyak atsiri *Peppermint* memungkinkan mampu menghambat kerja dari SARS-CoV-2. Selain itu, dapat bertindak sinergis atau mempotensiasi agen antivirus lain dan meredakan gejala COVID-19 (Silva *et al.*, 2020).

Salah satu tahapan yang dilakukan dalam studi *in silico* yaitu prediksi sifat fisikokimia berdasarkan Hukum 5 Lipinski. Analisis sifat fisikokimia adalah pengenalan yang ideal untuk kandidat obat yang tersedia secara oral. Saat ini, analisis sifat fisikokimia umum dilakukan untuk menganalisis properti suatu senyawa sebelum mensintesis menjadi kandidat obat baru (Shea and Moser., 2008). Tiga parameter dari Hukum 5 Lipinski sangat penting untuk struktur target dan situs pengikat target obat (Lipinski, 2016). Telah dilakukan studi pendahuluan pengujian sifat fisikokimia terhadap 10 senyawa monoterpen *Peppermint* menggunakan aplikasi *SwissADME*. Hasil yang diperoleh yaitu 10 senyawa monoterpen *Peppermint* memenuhi Hukum 5 Lipinski dengan 0 kesalahan (*SwissADME*, 2021).

Pada penelitian ini digunakan obat pembanding yaitu nelfinavir. Pemilihan nelfinavir, didasarkan pada kinerja obat tersebut yang mampu menghambat enzim atau protein SARS-CoV-2 dengan cara menghambat proses seluler kunci yang diperlukan untuk masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel inang (Musarrat *et al.*, 2020). Studi *in silico* menunjukkan bahwa nelfinavir merupakan penghambat potensial yang mengikat *Main protease* (Mpro) dengan penghambatan replikasi virus (Ohashi *et al.*, 2020 ; Xu *et al.*, 2020).

Selama ini masih belum ada penelitian yang meneliti senyawa pada minyak atsiri *Peppermint* (*limonene, cineole, menthone, menthofuran, isomenthone, menthylacetate, isopulegol, menthol, pulegone* dan *carvone*) terhadap reseptor COVID-19, oleh karena itu dalam penelitian ini penulis bermaksud untuk melakukan penelitian secara *in silico*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Apakah terjadi interaksi senyawa golongan monoterpen *Peppermint* dengan reseptor 6M2N secara *in silico*?
2. Bagaimana prediksi toksisitas senyawa golongan monoterpen *Peppermint* secara *in silico*?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui interaksi senyawa golongan monoterpen *Peppermint* dengan reseptor 6M2N secara *in silico*.
2. Untuk mengetahui berapa toksisitas senyawa golongan monoterpen *Peppermint* secara *in silico*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Akademik

1. Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini dapat digunakan sebagai sarana aplikasi penerapan disiplin ilmu dalam bidang farmasi, khususnya dalam pengembangan obat.

2. Bagi Penyusun

Penelitian ini dapat menjadi batu loncatan untuk penulis dalam mengembangkan terapi SARS-CoV-2 yang berasal dari bahan alam.

1.4.2. Manfaat Praktis

Manfaat dari penelitian ini yaitu :

Penelitian ini dapat membantu pemerintah menemukan senyawa dari bahan alam yang berpotensi untuk digunakan sebagai terapi SARS-CoV-2 yang minim efek samping karena berasal dari bahan alam.

1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Ligan (senyawa golongan monoterpen *Peppermint*) yang digunakan adalah *limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone*.
2. Protein target yang digunakan adalah reseptor *Main protease* (6M2N) yang diambil dari data PDB.
3. Uji *in silico* antara ligan (senyawa) *limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone* dengan reseptor target (6M2N) menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker* 6.0.
4. Parameter kelas toksisitas berdasarkan LD_{50} , *skin sesnsitilization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* menggunakan *pkCSM online tool* dan *Protox online tool*.
5. Parameter *molecular docking* berupa *Rerank Score*, nilai RMSD, ikatan hidrogen, ikatan sterik, dan jarak ikatan.
6. Parameter prediksi sifat fisikokimia berupa berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *Polar Surface Activity* (PSA) meggunakan aplikasi *SwissADME*.
7. Obat pembanding yang digunakan yaitu Nelfinavir

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman *Mentha piperita* L.

Peppermint (*Mentha piperita* L.) adalah ramuan abadi dan beraroma khas yang berasal dari famili Lamiaceae. Tanaman *Peppermint* dibudidayakan di daerah beriklim sedang di Eropa, Asia, Amerika Serikat, India, dan negara-negara Mediterania. *Peppermint* dikenal baik untuk penggunaan tradisional sebagai obat demam, pilek, masalah pencernaan, radang mukosa, dan memiliki aktivitas antivirus maupun antijamur (Mahendran and Rahman., 2020).

2.1.1. Klasifikasi Tanaman

Tanaman *Peppermint* berasal dari benua Eropa. Tanaman ini bisa tumbuh dimana saja seperti di benua Eropa, Asia, Afrika, Australia, dan Amerika Utara. Tanaman *Peppermint* adalah tanaman aromatik dikenal sebagai salah satu tanaman herbal tertua di dunia (Tim FMIPA, 2012). Klasifikasi *Peppermint* adalah sebagai berikut (USDA, 2009) :

Filum : Spermatophyta

Kelas : Magnoliopsida

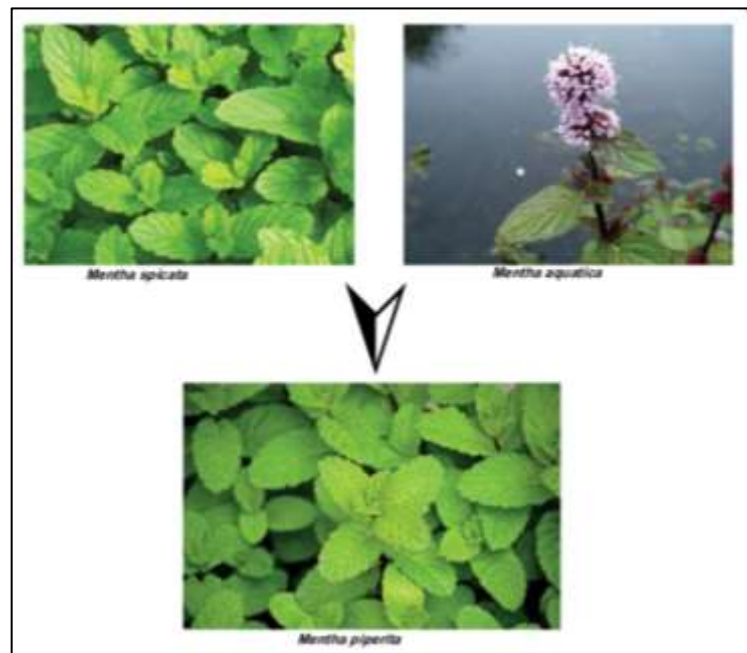
Subkelas : Asteridae

Ordo : Lamiales

Famili : Lamiaceae

Genus : *Mentha*

Spesies : *Mentha piperita* L.



Gambar 2.1 Ilustrasi Skema Hibrida *Peppermint* (Loolaie *et al.*, 2017)

2.1.2. Morfologi Tanaman

Tanaman *Peppermint* merupakan herba berakar rizoma dan berwarna putih serta berbatang halus yang tumbuh mencapai tinggi antara 30-90 cm. Habitus berupa semak tahunan dengan tinggi 10-50 cm. Daunnya tunggal tumbuh berseling, memiliki panjang antara 4-9 cm dan lebar antara 1,5 – 4 cm, pertulangan menyirip, berbentuk bulat telur, pangkal membulat, berwarna hijau gelap dengan pembuluh daun kemerah-merahan, ujungnya runcing dan tepi bergerigi. Daun dan batangnya teraba bulu yang kecil-kecil. Bunga daun *Peppermint* majemuk, berbentuk bulir, kelopak gundul berwarna ungu dengan panjang 6-8 mm, bermahkota empat lobus berdiameter sekitar 5 mm, putik tidak jelas. Di sekitar batang terdapat duri tebal tapi tumpul tersusun melingkar, Bunga muncul pada pertengahan akhir musim panas. Buah berupa buni, MENET berwarna coklat tua. (BPOM RI, 2008 ; USDA, 2009).

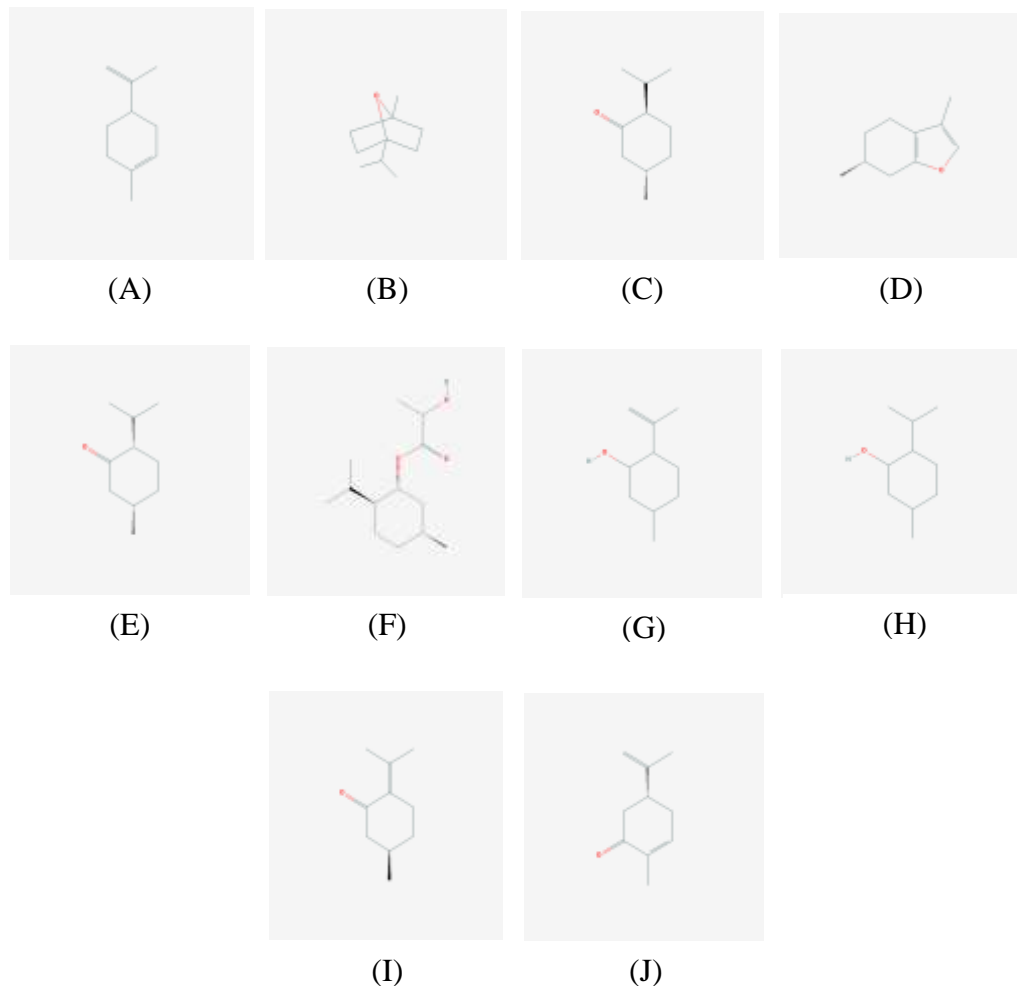


Gambar 2.2 Tanaman *Peppermint* (*Mentha piperita* L.) (USDA, 2009)

2.1.3. Kandungan dan Manfaat Tanaman

Sekitar 300 senyawa telah diidentifikasi di *essential oil*. Komponen utamanya adalah menthol (30-55%) dan mentone (14-32%). Menthol terutama sebagai isomer dengan (1R, 3R, 4S) (20-60%), sedangkan isomer utama menton adalah (1R, 4S) (5-35%). Farmakope VIII Polandia mendefinisikan kandungan bahan lain sebagai berikut : cineol (3,5-14%), menthyl asetat (2,8-10%), isomenton (1,5-10%), menthofuran (1,0-9,0%), limonene (1,0-5,0%), pulegone (<4%), dan carvone (<1%). Komposisi kuantitatif *essential oil* bergantung pada banyak faktor, seperti kondisi pertumbuhan dan tanggal panen (Winska *et al*, 2019).

Konstituen lain termasuk glikosida flavonoid (misalnya Narirutin, Luteolin-7-o-rutinoside, Isorhoifolin dan Hesperidin dll), polifenol (misalnya asam Rosmarat, Eriocitrin, asam Cinamic, asam Caffeic dan Narigenin-7-oglucoside); luteolin-diglucoronide dan eriodictyol glucopyranosyl-rhamnopyranoside juga dimurnikan dari tanaman *Peppermint* (Umezu *et al*, 2001).



Gambar 2.3 Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint: (A) Limonene; (B) Cineole; (C) Menthone; (D) Menthofuran; (E) Isomenthone; (F) Menthylactate; (G) Isopulegol; (H) Menthol; (I) Pulegone; (J) Carvone (Cosentino *et al.*, 2009; PubChem, 2020).

Peppermint merupakan salah satu tanaman obat dan aromatik yang paling ekonomis yang diproduksi di Amerika Serikat. Produksi minyak *Peppermint* di dunia sekitar 8000 ton per tahun. Minyak *Peppermint* paling banyak digunakan dari semua minyak atsiri. Daun dan minyak *Peppermint* memiliki manfaat sebagai berikut (Balakrishnan, 2015) :

1. Pengobatan tradisional sebagai agen penyedap rasa serta dalam produk kosmetik dan farmasi.

2. Sebagai astringen, antiseptik, antipruritik, antispasmodik, antiemetik, karminatif, diaphoretik, analgesik, antikatarrhal, antimikroba, rubefacient, stimulant, dan emenagogik.
3. Uap minyak *Peppermint* digunakan sebagai inhalan untuk penyumbatan pernafasan.
4. Infusa *Peppermint* digunakan untuk mengobati batuk, bronkitis, serta radang mukosa dan mulut.
5. Mengobati berbagai macam keluhan pencernaan seperti iritasi usus besar, penyakit Crohn, kolik, perut kembung, diare, mual, muntah, dan anoreksia.
6. Minyak *Peppermint* digunakan eksternal untuk neuralgia, mialgia, sakit kepala, migrain, dan cacar air.

2.1.4. Aktivitas Antivirus

Ada beberapa laporan yang menunjukkan bahwa berbagai ekstrak *Peppermint* memiliki aktivitas antivirus yang signifikan (Brand *et al.*, 2016). *Peppermint* dapat membantu sistem kekebalan dan melindungi tubuh dari virus (Moradi *et al.*, 2016). Berikut merupakan efek antivirus dari ekstrak *Peppermint*.

Tabel 2.1 Efek Antivirus dari Ekstrak *Peppermint*

Ekstrak	Virus	Referensi
Aqueous	HSV-1/2	(Moradi <i>et al.</i> , 2016)
	HIV-1	(Geuenich <i>et al.</i> , 2008)
	Influenza A virus	(Shaikh <i>et al.</i> , 2014)
	Newcastle disease virus	(Arora <i>et al.</i> , 2010)
	VACV in egg	(Arora <i>et al.</i> , 2010)
	Semliki Forest	(Singh <i>et al.</i> , 2015)
	West Nile Viruses	(Singh <i>et al.</i> , 2015)
Alkohol	Influenza A Virus	(Kunnumakkara <i>et al.</i> , 2009)
	HSV	(Reichling <i>et al.</i> , 2008)
<i>Essential Oil</i>	HSV-1	(Shaaban <i>et al.</i> , 2012)
	HSV-2	(Shaaban <i>et al.</i> , 2012)

Minyak esensial *Peppermint* menunjukkan aktivitas virucidal tingkat tinggi terhadap HSV-1 dan HSV-2 dalam tes suspensi virus. Kedua jenis virus itu secara signifikan dihambat saat virus Herpes simpleks telah diobati sebelumnya dengan EO sebelum adsorpsi. Minyak esensial *Peppermint* terkena virus sebelum adsorpsi, tetapi tidak setelah penetrasi ke dalam sel inang (Kumar *et al.*, 2020). Dalam penelitian Anwari *et al* (2019) pemberian ekstrak mint juga efektif dalam menurunkan status *wheezing* pada pasien. Dengan penambahan ekstrak mint juga mampu menurunkan tingkat sulitnya dahak untuk keluar menjadi 13% dari semula 36,1%. Hasil menunjukkan bahwa penambahan ekstrak *Peppermint* efektif dalam mengurangi tingkat keparahan status batuk pasien.

2.2. COVID-19

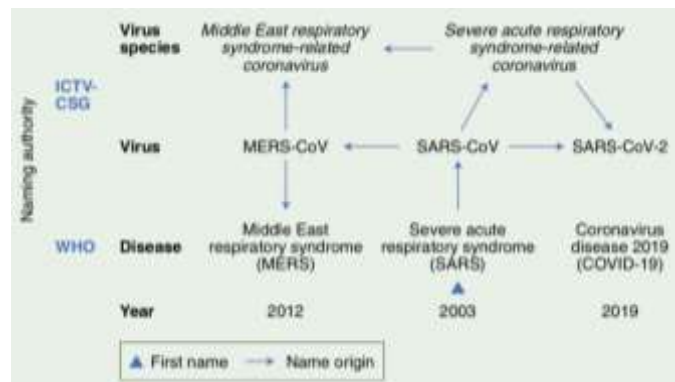
2.2.1. Virus SARS-CoV-2

Coronaviridae atau coronavirus adalah keluarga besar virus yang dapat menyebabkan penyakit pada mamalia dan burung. Pada manusia, virus menyebabkan penyakit, mulai dari flu biasa hingga penyakit pernapasan yang parah. Pada tahun 2002, muncul sindrom pernafasan akut yang parah (SARS), dan pada tahun 2012, muncul sindrom pernafasan Timur Tengah (MERS) - keduanya adalah *betacoronavirus* yang ditularkan dari hewan ke manusia yang mengakibatkan penyakit pernafasan yang parah pada individu yang terserang. Pada bulan Desember 2019, SARS-coronavirus (CoV)-2 baru, juga dikenal sebagai 2019-novel corona virus (2019-nCoV) atau penyakit coronavirus-2019 (COVID-19), menyebabkan wabah pneumonia di China dan kemudian meluas ke seluruh dunia dan menjadi pandemi global. Baru-baru ini, urutan genom pertama COVID-

19 dirilis dengan cara membandingkan dengan genom SARS-CoV dan MERS-CoV, para peneliti menemukan bahwa COVID-19 memiliki homologi urutan genom yang lebih baik dengan SARS-CoV daripada MERS-CoV (Kumar *et al.*, 2020).

Coronavirus adalah kelompok virus beragam yang menginfeksi banyak hewan yang berbeda, dan mereka dapat menyebabkan infeksi pernapasan ringan hingga parah pada manusia. Pada tahun 2002 dan 2012, masing-masing dua virus corona yang sangat patogen dengan asal zoonosis, *severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoV) dan *Middle East respiratory syndrome coronavirus* (MERS-CoV), muncul pada manusia dan menyebabkan penyakit pernapasan yang fatal, membuat munculnya masalah kesehatan masyarakat yang baru di abad kedua puluh satu (Cui *et al.*, 2019). Pada akhir 2019, sebuah virus corona baru yang disebut SARS-CoV-2 muncul di kota Wuhan, China, dan menyebabkan wabah virus pneumonia yang tidak biasa. Virus yang sangat mudah menular ini menyebabkan penyakit baru yang juga dikenal sebagai *coronavirus disease 2019* (COVID-19) telah menyebar dengan cepat ke seluruh dunia (Hui *et al.*, 2020 ; Wu *et al.*, 2020¹). Virus ini telah melampaui SARS dan MERS dalam hal jumlah orang yang terinfeksi dan rentang spasial dari area epidemi. Wabah COVID-19 yang sedang berlangsung telah menimbulkan ancaman luar biasa bagi kesehatan masyarakat global (Deng and Peng., 2020 ; Han *et al.*, 2020).

WHO menggunakan pendekatan tradisional untuk mengaitkan nama penyakit dengan virus tertentu seperti pada gambar di bawah ini



Gambar 2.4 Sejarah Penamaan Virus Corona dan Penyakitnya (Gorbalenya *et al.*, 2020)

Semua coronavirus mengandung gen spesifik di daerah ORF1 yang mengkode protein untuk replikasi virus, pembentukan nukleokapsid, dan pembentukan spikes. Glikoprotein spikes pada permukaan luar bertanggungjawab atas perlekatan dan masuknya virus ke sel inang. *Receptor binding domain* (RBD) secara longgar melekat di antara virus, oleh karena itu virus ini dapat menginfeksi beberapa host. SARS-Coronavirus membutuhkan enzim pengonversi angiotensin 2 (ACE2) sebagai reseptor utama. SARS-CoV-2 memiliki struktur coronavirus khas dengan protein lonjakan. Spike glikoprotein dari SARS-CoV-2 merupakan campuran SARS-CoV kelelawar dan β -CoV. Dalam studi fluoresen, SARS-CoV-2 menggunakan reseptor sel dan mekanisme sel ACE2 (Shereen *et al.*, 2020).

2.2.2. Penyebaran dan Penularan

Pada akhir Desember 2019, beberapa fasilitas kesehatan di Wuhan, provinsi Hubei, China melaporkan kelompok pasien dengan pneumonia yang tidak diketahui penyebabnya. Begitu pula dengan penderita SARS dan MERS, penderita tersebut menunjukkan gejala virus pneumonia, antara lain demam, batuk dan rasa tidak

nyaman pada dada, dan pada kasus yang parah dispnea dan infiltrasi paru bilateral (Zhu *et al.*, 2020). Di antara 27 pasien pertama yang dirawat di rumah sakit, sebagian besar kasus secara epidemiologis terkait dengan Pasar Grosir Makanan Laut Huanan, pasar tradisional yang terletak di pusat kota Wuhan, yang tidak hanya menjual makanan laut tetapi juga hewan hidup, termasuk unggas dan satwa liar (Deng and Peng., 2020 ; Gralinski and Menachery., 2020). Menurut studi retrospektif, permulaan kasus pertama yang diketahui terjadi pada 8 Desember 2019. Pada tanggal 31 Desember, Komisi Kesehatan Kota Wuhan memberi tahu publik tentang wabah pneumonia yang tidak diketahui penyebabnya dan melapor kepada Organisasi Kesehatan Dunia (Hu *et al.*, 2020).

Setelah dilakukan identifikasi, lebih banyak pasien yang tidak memiliki riwayat ke Pasar Grosir Makanan Laut Huanan terpapar virus ini. Beberapa kelompok infeksi keluarga dilaporkan, dan infeksi nosokomial juga terjadi di fasilitas layanan kesehatan. Semua kasus ini memberikan bukti yang jelas untuk penularan virus baru dari manusia ke manusia. Karena wabah tersebut bertepatan dengan pendekatan Tahun Baru Imlek, perjalanan antar kota sebelum festival memfasilitasi penularan virus di China. Pneumonia baru ini menyebar ke kota-kota lain di provinsi Hubei dan ke bagian lain Cina. Dalam 1 bulan, telah menyebar secara masif ke seluruh 34 provinsi di Cina. Jumlah kasus yang dikonfirmasi tiba-tiba meningkat, dengan ribuan kasus baru didiagnosis setiap hari selama akhir Januari (EET, 2020).

SARS-CoV-2, SARS-CoV, dan MERS-CoV diklasifikasikan di bawah subfamili yang sama, “*Coronavirinae*”, dan karena itu bersifat zoonosis,

menampilkan transfer kemampuan ke inang perantara manusia. Seperti disebutkan sebelumnya, wabah SARS-CoV terjadi di mana musang sebagai inang perantara dalam menularkan virus ke inang manusia pada tahun 2002-2003, sementara unta dromedaris berperan sebagai inang perantara yang menularkan virus ke manusia selama wabah MERS-CoV. Inang perantara SARS-CoV-2 yang telah menularkan virus ke manusia masih belum jelas karena adanya beberapa spesies hewan di Pasar Grosir Makanan Laut Huanan (Jiang *et al.*, 2020).

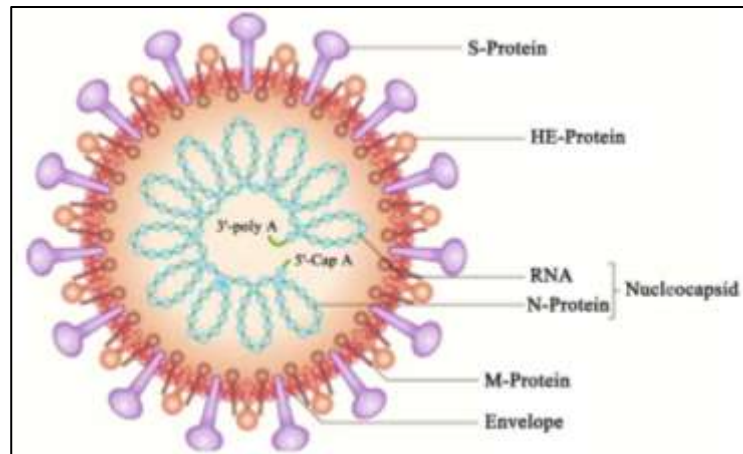
Bukti genetik menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 adalah virus alami yang kemungkinan berasal dari hewan, namun belum ada kesimpulan tentang kapan dan di mana virus pertama kali masuk ke manusia, karena beberapa kasus pertama yang dilaporkan di Wuhan tidak memiliki kaitan epidemiologis dengan pasar makanan laut. Diduga pasar tersebut mungkin bukan sumber awal penularan SARS-CoV-2 pada manusia (Li *et al.*, 2020). Satu studi dari Perancis mendeteksi SARS-CoV-2 oleh PCR dalam sampel yang disimpan dari pasien yang menderita pneumonia pada akhir 2019, menunjukkan SARS-CoV-2 mungkin telah menyebar di sana jauh lebih awal daripada waktu awal wabah yang diketahui secara umum di Perancis. Namun, laporan awal individu ini tidak dapat memberikan jawaban yang pasti tentang asal mula SARS-CoV-2. Untuk mengatasi masalah yang sangat kontroversial ini, penyelidikan retrospektif lebih lanjut yang melibatkan sejumlah besar sampel bank dari pasien, hewan dan lingkungan perlu dilakukan di seluruh dunia dengan tes yang divalidasi dengan baik (Deslandes *et al.*, 2020).

Transmisi antar manusia ialah yang paling aktif, virus ini dapat ditularkan dengan berbagai rute transmisi. Kontak dengan dengan potensi menghirup droplet

yang mengandung virus adalah transmisi paling umum untuk SARS-CoV-2. Selain itu, penularannya juga bisa melalui transmisi aerosol. Selain itu, peneliti juga mendeteksi adanya SARS-CoV-2 dalam sampel tinja, saliva, urin, dan saluran pencernaan. Berdasarkan bukti bioinformatika, menunjukkan bahwa saluran pencernaan mungkin merupakan rute potensial infeksi (Wang *et al.*, 2020). RNA dari virus SARS-CoV-2 juga terdeteksi dalam saluran gastrointestinal, air mata, dan sekresi pasien yang terpapar SARS-CoV-2 (Xiao *et al.*, 2020 ; Xia *et al.*, 2020).

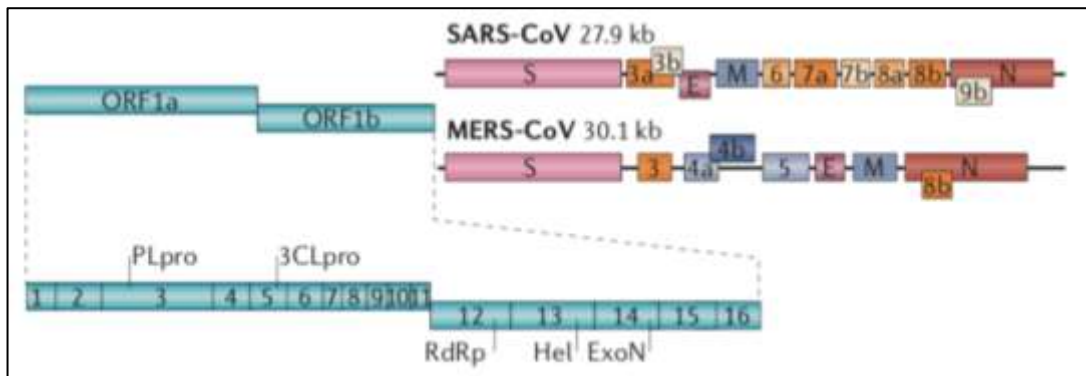
2.2.3. Struktur, Genom, dan Taksonomi

Coronavirus adalah virus RNA (Gambar 2.5) yang memiliki lima protein yang terdiri dari protein spike (protein S), protein envelope (protein-E), hemagglutinin-esterase (HE- protein), protein nukleokapsid (protein-N) dan protein membran (protein-M). Seperti umumnya kebanyakan virus RNA, siklus hidup mereka dimulai dengan menempelkan diri ke sel inang melalui paku permukaannya. S-protein adalah glikoprotein, yang terlibat dalam fusi virus dengan sel inang protein membran yang merupakan protein struktural, yang mempertahankan bentuk protein. E-protein berfungsi sebagai fasilitator pelepasan virus, di dalamnya terdapat kanal ion yang dibutuhkan untuk aktivitas patogenik virus (Fehr and Perlman., 2015).



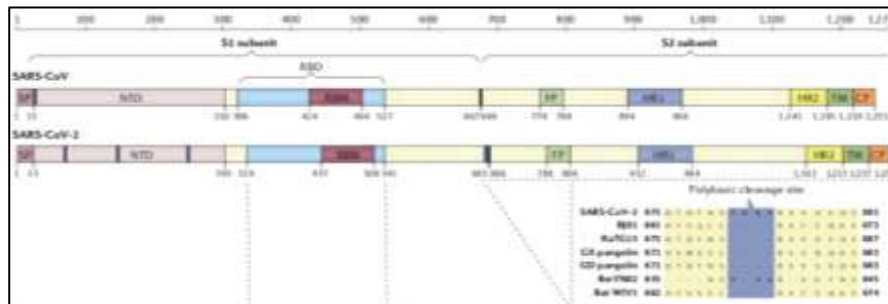
Gambar 2.5 Struktur *Coronavirus* (Korsman and Preiser., 2012)

SARS-CoV dan MERS-CoV termasuk dalam genus *Coronavirus* dalam famili *Coronaviridae* dan memiliki genom RNA sense positif yang besar, masing-masing 27,9 kb dan 30,1 kb (Wit *et al.*, 2016). Sebagai virus betacorona baru, SARS-CoV-2 mirip 79% dengan identitas urutan genom SARS-CoV dan 50% dengan MERS-CoV. Enam kerangka pembacaan terbuka fungsional (ORFs) disusun dalam urutan dari 5' hingga 3': replikaase (ORF1a / ORF1b), spike (S), envelope (E), membran (M) dan nukleokapsid (N). Selain itu, tujuh ORF putatif pengkodean protein aksesori diselingi antara gen struktural. Sebagian besar protein yang dikodekan oleh SARS-CoV-2 memiliki panjang yang sama dengan protein yang sesuai dalam SARS-CoV. Dari empat gen struktural, SARS-CoV-2 memiliki lebih dari 90% identitas asam amino dengan SARS-CoV kecuali untuk gen S. Gen replikasi mencakup dua pertiga dari 5' genom, dan mengkode poliprotein besar (pp1ab), yang secara proteolitik dibelah menjadi 16 protein non-struktural yang terlibat dalam transkripsi dan replikasi virus. Sebagian besar protein non-struktural SARS-CoV-2 ini memiliki lebih dari 85% identitas urutan asam amino dengan SARS-CoV (Chan *et al.*, 2020).



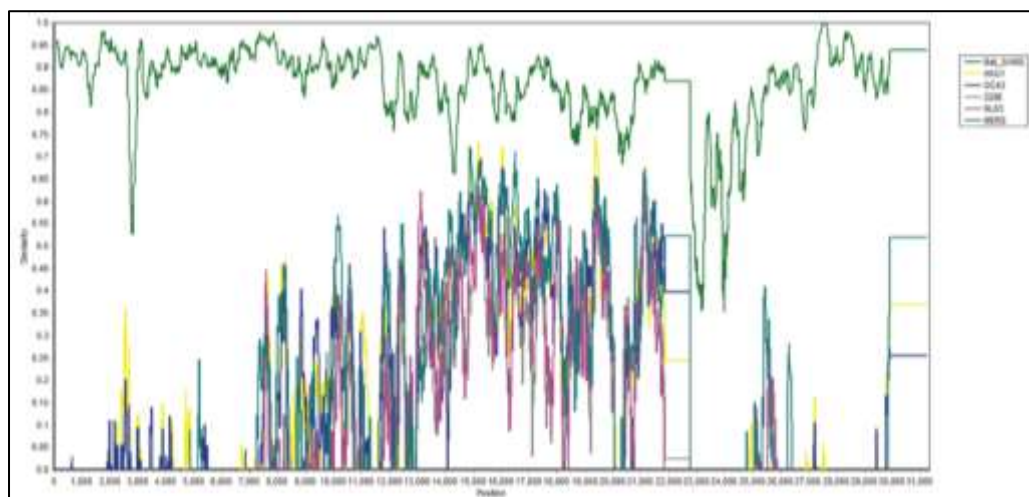
Gambar 2.6 Genom SARS-CoV dan MERS-CoV (Wit *et al.*, 2020)

Protein SARS-CoV-2 S memiliki ukuran penuh 1.273 asam amino, lebih panjang daripada SARS-CoV (1.255 asam amino) dan *Bat SARSr-CoV* (1.245–1.269 asam amino). Hal tersebut berbeda dari protein S, sebagian besar anggota dalam subgenus *Sarbecovirus* memiliki kesamaan urutan asam amino 76,7–77% dengan SARS-CoV dari musang dan manusia, 75–97,7% dengan coronavirus kelelawar di subgenus yang sama dan 90,7–92,6% dengan coronavirus trenggiling. Pada receptor-binding domain (RBD) protein S, kesamaan asam amino antara SARS-CoV-2 dan SARS-CoV hanya 73%. Ciri genom spesifik lain dari SARS-CoV-2 adalah penyisipan empat residu asam amino (PRRA) di persimpangan subunit S1 dan S2 dari protein S26 (Gambar 2.6). Penyisipan ini menghasilkan situs pembelahan polibasik (RRAR), yang memungkinkan pembelahan yang efektif oleh furin dan protease lain. Situs pembelahan S1 – S2 seperti itu tidak diamati pada semua virus terkait yang termasuk dalam subgenus *Sarbecovirus*, kecuali untuk tiga penyisipan asam amino (PAA) serupa di RmYN0 (Anderson *et al.*, 2020).



Gambar 2.7 Perbedaan struktur SARS-CoV dengan SARS-CoV-2 (Hu *et al.*, 2020)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Phan *et al.*, 2020), urutan nukleotida SARS-CoV-2 dibandingkan dengan jenis lain dari coronavirus yang sudah diketahui menggunakan analisis urutan berpasangan. Hasilnya menunjukkan 88% kesamaan nukleotida dengan *Bat-SARS-CoV* yang paling mirip dengan SARS-CoV (Gambar 2.8) dengan selisih yang signifikan dibandingkan dengan coronavirus zoonosis lain yang diketahui dengan <50% kesamaan nukleotida. Meskipun tidak pasti, hasil tersebut menunjukkan bahwa pasar grosir makanan laut Huanan berpotensi erat terkait dengan sumber virus dengan sumber lain, menunjukkan bahwa kelelawar adalah reservoir utama SARS-CoV-2.



Gambar 2.8 Uji Kesamaan Nukleotida SARS-CoV-2 dengan Coronavirus Lain yang Diketahui (Phan *et al.*, 2020).

Klasifikasi taksonomi SARS-CoV-2 dikembangkan oleh (Gorbalenya *et al.*, 2020) sebagai berikut :

Realm : *Riboviria*

Order : *Nidovirales*

Suborder : *Cornidovirineae*

Famili : *Coronaviridae*

Subfamili : *Orthocoronavirinae*

Genus : *Betacoronavirus*

Subgenus : *Sarbecovirus*

Species : *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*

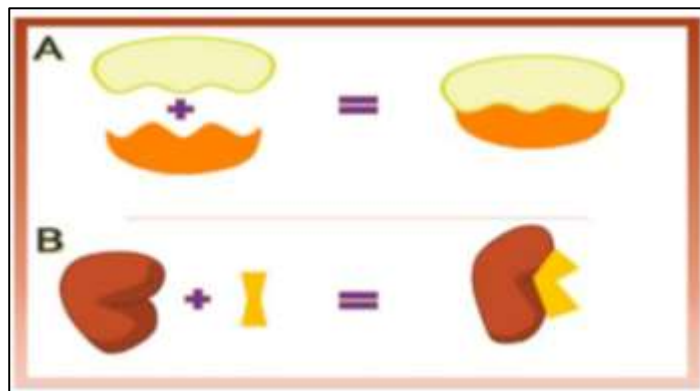
2.3. Pemodelan Molekul

Molecular docking adalah metode yang paling umum yang telah banyak digunakan sejak awal 1980-an. Program yang didasarkan pada algoritme yang berbeda dikembangkan untuk melakukan studi *molecular docking*, yang menjadikan docking sebagai alat yang semakin penting dalam penelitian farmasi (Meng *et al.*, 2011).

Informasi yang diperoleh dari molekul yang terikat dapat digunakan untuk memprediksi profil energi (energi ikatan bebas), kekuatan dan stabilitas (afinitas pengikatan dan konstanta pengikatan) kompleks. Hal tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan fungsi *scoring* dari *molecular docking*. Saat ini, pemodelan molekul sering digunakan untuk meramalkan orientasi pengikatan molekul kecil (kandidat obat) ke target biomolekulernya (seperti protein, karbohidrat dan asam

nukleat) dengan tujuan untuk menentukan parameter sebagai data mentah untuk perancangan obat rasional (pengembangan obat berbasis struktur) dari agen baru dengan efikasi yang lebih baik dan lebih spesifik (Agarwal and Ranjana., 2016).

Penjelasan awal untuk mekanisme pengikatan reseptor ligan adalah teori *lock and key* yang diajukan oleh Fischer, di mana ligan cocok dengan reseptor seperti gembok dan kunci yang mana ligan dan reseptor diumpamakan sebagai benda kaku yang sesuai. Selanjutnya, teori *induced fit* yang dibuat oleh Koshland membawa teori *lock and key* selangkah lebih maju, yang menyatakan bahwa situs aktif protein secara terus-menerus dibentuk kembali oleh interaksi dengan ligan saat ligan berinteraksi dengan protein. Teori ini menyebutkan bahwa ligan dan reseptor harus diperlakukan fleksibel selama *docking* agar bisa menggambarkan peristiwa pengikatan lebih akurat daripada teori sebelumnya (Martinez *et al.*, 2018).



Gambar 2.9 Teori *Lock and Key* (A) dan *Induced Fit* (B) (Martinez *et al.*, 2018)

Beberapa pendekatan yang ada untuk *molecular docking* menurut Supriya *et al* (2016) antara lain *Monte Carlo Approach* yaitu, pendekatan ini menghasilkan konfigurasi awal ligan di situs aktif yang terdiri dari konformasi acak, terjemahan dan rotasi untuk menilai konfigurasi awal. Selanjutnya, menghasilkan konfigurasi baru menggunakan kriteria Metropolis untuk menentukan apakah konfigurasi baru

bisa diambil dan dipertahankan (Jika kriteria Metropolis baru mendapat skor yang lebih baik dari yang sebelumnya, maka dapat diterima). *Fragment Based Method*, dijelaskan dengan membagi ligan menjadi proton atau fragmen terpisah, mendocking fragmen dan menyatukan fragmen menjadi satu. *Distance Geometry*, metode ini dilihat dari banyaknya jenis informasi struktural yang dapat dinyatakan sebagai jarak intra atau antar molekul. *Distance geometry* memungkinkan adanya jarak yang digabungkan dan struktur 3 dimensi yang konsisten dapat dihitung. *Matching Approach*, pendekatan ini berfokus atom ligan yang ditempatkan pada posisi 'terbaik' di *active site*, menghasilkan konfigurasi reseptor ligan yang mungkin memerlukan pengoptimalan. *Ligand fit Approach*, pendekatan ligan ini memberikan hasil yang akurat untuk menambatkan molekul ligan ke dalam situs aktif protein, untuk mempertimbangkan kesesuaian bentuk antara situs aktif ligan dan protein. *Point Complimentary Approach*, pendekatan ini didasarkan pada evaluasi kelengkapan bentuk dan atau komplementaritas kimiawi antar molekul yang berinteraksi. *Blind Docking*, pendekatan ini untuk mendeteksi kemungkinan situs pengikatan dan mode ligan peptide dengan memindai seluruh permukaan target protein. *Inverse Docking*, pendekatan ini untuk menemukan toksisitas dan efek samping target protein dari molekul. Hasil target ini dilihat berdasarkan profil farmakokinetik dan penilaian potensi efek samping toksisitas calon obat.

Skrining berbasis *in silico* telah terbukti menjadi alat yang sangat berguna untuk menghadapi tantangan dalam penemuan obat antivirus. Skrining pustaka gabungan virtual alami atau sintetik dengan metode skrining komputasi, karena *docking* dapat menghemat sumber daya dalam hal biaya dan juga waktu (Murguetio

et al., 2012). Senyawa alami telah bermanfaat untuk manusia sebagai kandidat obat yang lebih murah dan lebih aman menyembuhkan beberapa penyakit (Thomford *et al.*, 2018).

2.4. Molegro Virtual Docker

Molegro Virtual Docker (MVD) adalah alat utama dalam bidang molekuler struktural dengan bantuan model komputer untuk memprediksi ikatan ligan ke wilayah protein target dalam struktur 3D. Docking ini digunakan identifikasi ikatan ligan dilakukan secara berulang-ulang untuk mempelajari dan memprediksi orientasi dan afinitas pengikatan secara cepat dan fleksibel (CLCbio, 2013).

Molegro Virtual Docker (MVD) memungkinkan pengguna untuk melakukan simulasi *docking* dalam paket komputasi yang terintegrasi penuh. MVD telah berhasil diterapkan pada ratusan protein yang berbeda, dengan kinerja *docking* yang mirip dengan program docking lainnya seperti AutoDock4 dan AutoDock Vina. Program MVD memiliki empat algoritma pencarian dan empat fungsi penilaian asli. Program ini dapat disesuaikan dapat menggunakan molekul air atau tidak dalam simulasi docking dan MVD membuka kemungkinan untuk melakukan analisis statistik terperinci dari hasil docking, yang menambah kemampuan asli program MVD (Ferreira and Walter., 2019).

Program Molegro Virtual Docker (MVD) ini digunakan karena ketepatan akurasi *docking*, program MVD terbukti memiliki keunggulan dari program *docking* yang sejenisnya dengan persentasi nilai MVD sebesar 87%, Glide sebesar 82%, Surflex sebesar 75% dan Flex sebesar 58% (Bhatt, 2012).

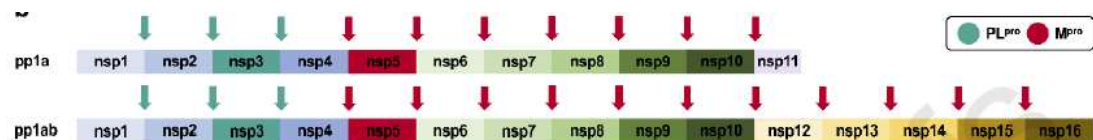
2.5. Reseptor *Main protease* (PDB ID 6M2N)

SARS-CoV-2 terdiri atas protein struktural dan non struktural (Mitta *et al.*, 2020). Protein struktural utama SARS-CoV-2 antara lain adalah protein spike (S), membran (M), envelope (E), hemagglutinin-esterase (HE-protein), dan nukleokapsid (N). Selain kelima protein struktural tersebut, terdapat 16 protein non struktural. Salah satu yang termasuk ke dalam protein non struktural yaitu nsp 5 atau biasa disebut Mpro (Chen *et al.*, 2020).

Bentuk kristal *Main protease* (Mpro) COVID-19 ditunjukkan oleh peneliti China Liu *et al* (2020) merupakan protein target yang potensial untuk penghambatan replikasi SARS-CoV-2. Mpro adalah protein kunci yang dibutuhkan untuk aktivasi proteolitik virus. Penargetan Mpro memiliki potensi untuk memberikan pengobatan yang efektif melawan SARS-CoV-2 melalui penghambatan pembelahan polipeptida virus, bahkan sebagian besar peristiwa pembelahan dan aktivasi dalam prekursor polipeptida dimediasi oleh *Main protease* CoV (CoV Mpro ; juga dikenal sebagai 3CLpro).

Mpro pertama kali dibelah secara otomatis dari poliprotein. Bentuk monomer Mpro tidak aktif secara enzimatis, dan diaktifkan melalui homodimerisasi yang sangat dipengaruhi oleh residu ekstra di kedua ujung enzim yang aktif. Mpro membentuk homodimer dengan masing-masing protomer mengandung 3 domain. Situs aktif Mpro terletak di domain N-terminal di celah antara domain I dan II (Xia and Kang., 2011). Mpro secara proteolitik membelah poliprotein pp1a dan pp1ab yang tumpang tindih menjadi protein fungsional, yang merupakan langkah krusial selama replikasi virus. Replikasi enzim esensial seperti RdRp atau nsp 12 tidak

dapat berfungsi sepenuhnya tanpa pelepasan dari proteolitik sebelumnya. Mpro sebagai enzim kunci dalam siklus replikasi virus. Ketika mRNA virus mentranslasi poliprotein, Mpro pertama kali diaktifkan menjadi enzim yang tugasnya membelah semua 11 protein nonstruktural dari poliprotein topoliptida yang diperlukan untuk replikasi virus. Penghambatan Mpro diharapkan dapat memblokir replikasi virus, karena tidak ada protease manusia yang memiliki spesifitas pembelahan yang serupa. Dengan demikian, maka dapat meringankan gejala penyakit COVID-19 (Ulrich and Nitsche, 2020).



Gambar 2.10 Pembelahan Poliprotein pp1a dan pp1ab oleh Mpro (Ulrich and Nitsche, 2020).

Hasil dari permodelan struktur protein didapatkan beberapa protein yang terdapat pada SARS-CoV-2, salah satunya adalah *Main protease* (Mpro; 3CLpro). Selanjutnya, untuk meverifikasi keakuratan permodelan stuktur tersebut diselaraskan struktur komputasi dari SARS-CoV-2 3CLpro yang dimodelkan dari SARS-CoV 3CLpro dengan struktur kristalnya sehingga di dapatkan protein dengan kode 6M2N (Wu, C *et al.*, 2020).

Salah satu strategi yang dapat diterapkan untuk meneliti senyawa yang berpotensi sebagai antivirus corona, dengan cara mengetahui informasi genom dan karakteristik patologis yang berbeda pada virus untuk mengembangkan obat baru. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan analisis bioinformatika pada protein yang dikodekan oleh gen virus corona (SARS-CoV-2). Permodelan dilakukan secara sistematis antara protein pada SARS-CoV-2 dan dibandingkan dengan virus

corona lain, seperti SARS-CoV dan MERS-CoV. Permodelan struktur protein meliputi viral papain like protease (PLpro), *Main protease* (Mpro ; 3CLpro atau 3-chymotrypsin-like protease), RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), helicase, Spike, dan lain sebagainya (Wu, *Cet al.*, 2020).

2.6. Obat Pembanding (Nelfinavir)

Setelah wabah *severe acute respiratory syndrome* (SARS) pada tahun 2003, skrining obat yang disetujui mengidentifikasi setidaknya dua penghambat protease human immunodeficiency virus tipe-1 (HIV-1), lopinavir dan nelfinavir, sebagai senyawa yang menghambat replikasi SARS-CoV secara *in vitro*. Dalam penelitian dengan pasien SARS pada tahun 2004, kelompok yang diobati dengan lopinavir-nelvinafirmenunjukkan hasil klinis yang lebih baik dibandingkan kelompok kontrol yang hanya diobati dengan ribavirin. SARS-CoV-2 relatif mirip dengan SARS-CoV, diharapkan obat ini akan efektif untuk pengobatan pasien COVID-19 (Yamamoto *et al.*, 2020). Dengan menggunakan pendekatan penemuan obat komputasional integratif, diperkirakan bahwa nelfinavir adalah penghambat potensial dari *mainprotease* SARS-CoV-2 dan kemungkinan besar adalah multi-agen target (Xu *et al.*, 2020).

Nelfinavir terbukti memiliki potensi yang tinggi dalam menghambat masuknya SARS-CoV-2 ke dalam inang sel mamalia. Nelfinavir menghambat enzim atau protein SARS-CoV-2 dengan cara menghambat proses seluler kunci yang diperlukan untuk masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel inang (Musarrat *et al.*, 2020). Studi *in silico* menunjukkan bahwa nelfinavir mengikat *Main protease* (Mpro) dengan penghambatan replikasi virus (Ohashi *et al.*, 2020 ; Xu *et al.*, 2020).

Pemodelan matematis aktivitas antivirus pada penelitian *in vitro* yang digabungkan dengan farmakokinetik yang diketahui dapat memprediksi obat menyatakan bahwa nelfinavir dapat memfasilitasi pembersihan virus (Ohashi *et al.*, 2020).

Data *in vitro* dari berbagai kelompok telah menunjukkan bahwa nelfinavir memiliki aktivitas melawan SARS-CoV-2. Beberapa model komputasi juga menegaskan bahwa nelfinavir dapat mengikat *Main protease* (Mpro) SARS-CoV-2 pada posisi Glu166, interaksi tersebut secara kuantitatif lebih besar daripada interaksi lopinavir dan ritonavir (Xuet al., 2020¹ ; Musarrat *et al.*, 2020). Tim peneliti dari *Japan National Institute of Infectious Disease* menemukan bahwa nelfinavir adalah protease inhibitor yang paling poten melawan SARS-CoV-2, 3-5 kali lebih poten daripada lopinavir/ritonavir (Yamamoto *et al.*, 2020). Selain itu, berdasarkan data *in vitro*, nelfinavir diperkirakan dapat menurunkan durasi sakit hingga 4 hari (Ohashi *et al.*, 2020).

Eksperimen *in silico* menyebutkan kemungkinan bahwa nelfinavir dapat mengikat di dalam struktur trimer S, proksimal dari terminal amino S2 secara langsung menghambat fusi membran yang dimediasi SARS-CoV-2 Spike (S-new ‘ Sn) dan SARS-CoV Spike (S-old ; So). Selain itu, ada kemungkinan bahwa nelfinavir dapat bertindak untuk menghambat pemrosesan proteolitik S di dalam sel. Hasil ini menjamin penyelidikan lebih lanjut tentang potensi nelfinavir mesylate untuk menghambat penyebaran virus pada waktu-waktu awal setelah gejala SARS CoV-2 muncul (Musarrat *et al.*, 2020).

2.7. Studi Pendahuluan Prediksi Sifat Fisikokimia

Prediksi sifat fisikokimia dilakukan dengan menggunakan hukum lima Lipinski dalam mengevaluasi bioavailabilitas suatu senyawa, sehingga dapat dilakukan selektifitas secara optimal. Kandidat senyawa yang sesuai dengan hukum lima Lipinski cenderung memiliki tingkat kestabilan yang lebih baik selama pengujian. Pengecekan dilakukan dengan memasukan *code SMILES* pada aplikasi *SwissADME* yang dapat diakses secara bebas melalui situs <https://www.swissadme.ch/>. *SwissADME* mampu menampilkan prediksi dari banyak senyawa. Selain itu, dapat memberikan rangkuman analisis sehingga lebih mudah dalam tahapan analisis maupun pemilihan senyawa (Daina *et al.*, 2017).

Paramater pokok hukum lima Lipinski yang dilihat dalam penelitian ini ialah berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *hydrogen bond acceptors* (HBA), *hydrogen bond donors* (HBD), *torpological polar surface area* (TPSA) dan jumlah antar atom yang dapat berotasi (*Torsion*). Hasil studi pendahuluan prediksi sifat fisikokimia dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Hasil studi pendahuluan prediksi sifat fisikokimia senyawa monoterpen *Peppermint* dan obat pembanding (nelfinavir)

Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski)						Penerapan Hukum 5 Lipinski
	BM (g/mol)	Log P	Torsion	HBA	HBD	TPSA (Å ²)	
<i>Limonene</i>	136,23	2,11	1	0	0	0,00	Ya, 0 kesalahan
<i>Cineole</i>	136,23	1,12	1	0	0	0,00	Ya, 0 kesalahan
<i>Menthone</i>	154,25	2,03	1	1	0	17,07	Ya, 0 kesalahan
<i>Menthofuran</i>	150,22	1,01	0	1	0	13,14	Ya, 0 kesalahan
<i>Isomenthone</i>	154,25	1,11	1	1	0	17,07	Ya, 0 kesalahan
<i>Menthylacetate</i>	197,29	2,31	3	2	0	40,13	Ya, 0 kesalahan
<i>Isopulegol</i>	154,25	1,20	1	1	1	20,23	Ya, 0 kesalahan
<i>Menthol</i>	156,27	2,01	1	1	1	20,23	Ya, 0 kesalahan
<i>Pulegone</i>	152,23	1,41	0	1	0	17,07	Ya, 0 kesalahan
<i>Carvone</i>	150,22	1,17	1	1	0	17,07	Ya, 0 kesalahan
Nelfinavir	567,78	4,1	12	5	4	127,20	Ya, 1 kesalahan

Keterangan tabel :

BM : Berat Molekul <500
 Log P : Koefisien Partisi <5
 Torsion : Ikatan H yang dapat berotasi 0-15
 HBA : Jumlah atom O dan N <10
 HBD : Jumlah atom OH dan NH <5
 TPSA : *Torpological Polar Surface Area* <140

Tabel 2.2 menunjukkan bahwa senyawa monoterpen *Peppermint* dan obat pembanding nelfinavir memenuhi hukum lima Lipinski. Sehingga senyawa-senyawa tersebut diprediksi mudah diabsorbsi, memiliki permeabilitas yang baik dan memiliki bioavailabilitas oral yang baik. Menurut Lipinski *et al* (1997) senyawa tidak memenuhi hukum lima Lipinski apabila terdapat lebih dari 1 kesalahan. Permeabilitas merupakan kemampuan senyawa untuk menembus membran. Permeabilitas sangat berpengaruh pada proses ADME. Pada tahapan absorpsi kemampuan suatu senyawa untuk melintas pada membrane biologi ke sirkulasi darah dipengaruhi oleh permeabilitas senyawa. Pada proses distribusi permeabilitas juga berpengaruh pada saat menembus sistem saraf pusat (Hariz, 2019).

Senyawa yang memiliki permeabilitas rendah dan akan sulit terabsorbsi apabila berat molekul >500, nilai log koefisien partisi oktanol/air >5, ikatan H akseptor (HBA) yang dinyatakan dalam jumlah atom O dan N >10, dan ikatan H donor (HBD) yang dinyatakan dalam jumlah gugus O-H dan N-H >5 (Lipinski *et al.*, 1997).

Senyawa-senyawa diatas yang memiliki berat molekul paling besar yaitu nelfinavir. Sedangkan senyawa yang memiliki berat molekul paling kecil yaitu senyawa *limonene* dan *cineole*. Berat molekul menunjukkan massa serta ukuran, volume, dan kepadatan. Berat molekul obat tergantung pada jenis dan berapa

banyak unsur yang ada dalam strukturnya (Kumar *et al.*, 2009). Nilai berat molekul berhubungan pada proses distribusi obat. Proses distribusi obat dapat terjadi dengan metode menembus membran biologis. Senyawa obat yang mempunyai bobot molekul kecil dapat mempermudah pada saat menembus membran biologis. Akan tetapi, apabila bobot molekul besar akan sulit menembus membran biologis (Narko dkk., 2017).

Senyawa-senyawa diatas memiliki nilai Log P yang lebih kecil dari 5. Nilai Log P merupakan koefisien partisi oktanol-air dan dapat didefinisikan sebagai konsentrasi relatif zat terlarut dalam oktanol dan air. Log P merupakan ukuran derajat hidrofobisitas dan berperan penting dalam penyerapan obat melalui lapisan *phospholipid bilayer* (Deschamps *et al.*, 2007). Nilai Log P >5 dapat menyebabkan senyawa obat cenderung mempunyai tingkat toksisitas yang tinggi sebab senyawa obat akan tertahan pada *phospholipid bilayer* dalam waktu yang lebih lama dan terdistribusi di dalam tubuh lebih luas. Hal tersebut menyebabkan selektifitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Nilai Log P yang terlalu negatif atau lebih kecil dari -4 juga tidak baik sebab senyawa tersebut tidak dapat melewati membran *phospholipid bilayer* (Syahputra, 2014). Nilai Log P yang tinggi bersifat hidrofobik. Begitupun sebaliknya apabila nilai Log P yang rendah bersifat hidrofilik (Shargel and Andrew, 2012).

Nilai *hydrogen bond donor* pada senyawa-senyawa diatas tidak terdapat senyawa yang memiliki nilai lebih dari 5. Sedangkan nilai *hydrogen bond acceptor* dari senyawa-senyawa juga tidak terdapat senyawa yang memiliki nilai lebih dari 10. *Hydrogen bond donor* dan *hydrogen bond acceptor* berhubungan dengan

aktivitas biologi dari senyawa obat. Ikatan hidrogen adalah pengikatan satu atom hidrogen oleh dua atom lain yang berbeda. Ikatan ini dapat dibentuk di antara molekul-molekul tidak bermuatan maupun molekul-molekul bermuatan. Atom yang mengikat hidrogen lebih kuat disebut donor hidrogen sedang lainnya dinamakan akseptor hidrogen (Kusmiyati, 2017). Semakin besar jumlah *hydrogen bond donor* dan *hydrogen bond acceptor* maka semakin tinggi energi yang diperlukan untuk proses absorpsi dapat terjadi (Syahputra, 2014).

Nilai TPSA pada senyawa-senyawa diatas menunjukkan semua senyawa memiliki nilai kurang dari 140 Å. Nilai TPSA menunjukkan luas permukaan yang diperlukan untuk mengikat sebagian besar reseptor target. Atom oksigen dan nitrogen dalam fragmen kutub berpusat dipertimbangkan untuk perhitungan komputasi. TPSA telah terbukti menjadi deskriptor yang sangat baik yang mencirikan absorpsi obat, termasuk absorpsi usus, ketersediaan hayati, permeabilitas, dan penetrasi sawar darah-otak (Kumar *et al.*, 2009). Senyawa yang memiliki nilai TPSA lebih dari 140 Å² akan cenderung sulit menyerap dalam membran sel (Ertl *et al.*, 2000).

Jumlah ikatan yang dapat diputar (*torsion*) penting untuk dipertimbangkan dalam suatu senyawa. Molekul yang mempunyai torsion lebih besar akan menjadi lebih fleksibel serta mempunyai ikatan yang baik dengan daerah pengikat (Shekhar *et al.*, 2018). Nilai torsion senyawa-senyawa pada tabel diatas semua masuk dalam rentang 0-15.

2.8. Interaksi Obat-Reseptor

2.8.1. Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen terbentuk bila ada dua atom saling menggunakan sepasang elektron secara bersama-sama. Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia yang paling kuat dengan rata-rata kekuatan ikatan 100 kkal/mol. Interaksi obat reseptor melalui ikatan kovalen menghasilkan kompleks yang cukup stabil dan ireversibel, dan sifat ini dapat digunakan untuk tujuan pengobatan tertentu (Siswandono, 2016).

2.8.2. Ikatan Ionik

Ikatan ionik adalah ikatan yang dihasilkan oleh daya tarik menarik elektrostatik antara ion-ion yang muatannya berlawanan. Kekuatan tarik menarik akan makin berkurang bila jarak antar ion semakin jauh dan pengurangan tersebut berbanding terbalik dengan jaraknya (Siswandono, 2016).

2.8.3. Ikatan Ion-dipol dan Dipol-dipol

Ikatan Ion-dipol dan Dipol-dipol karena adanya perbedaan keelektronegatifan atom C dengan atom yang lain, seperti atom O dan N dan akan membentuk distribusi elektron tidak simetris atau dipol yang mampu membentuk ikatan dengan ion atau dipol lain, baik yang memiliki daerah kerapatan elektron tinggi maupun rendah (Siswandono, 2016).

2.8.4. Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan suatu ikatan antara atom H yang mempunyai muatan positif parsial dengan atom lain yang bersifat elektronegatif dan mempunyai sepasang elektron bebas dengan oktet lengkap seperti O,N,F. Ikatan hidrogen terjadi pada senyawa yang memiliki gugus-gugus seperti OH...O, NH...O,

NH...H, OH...N, NH...F, OH...F. Ada dua ikatan hidrogen yaitu ikatan hidrogen intramolekul (terjadi dalam suatu molekul) dan ikatan hidrogen intermolekul (terjadi antar molekul-molekul). Kekuatan ikatan intermolekul lebih lemah dibandingkan dengan intramolekul (Siswandono, 2016).

2.8.5. Ikatan Van der Waal's

Ikatan Van der Waal's merupakan kekuatan tarik menarik antar molekul atom-atom yang tidak bermuatan, dan letaknya berdekatan atau jaraknya 4-6 Å. Ikatan ini dapat terjadi karena sifat kepolaran molekul atom. Ketika dua atom mendekat satu sama lain, kedua atom ini membentuk gaya tarik yang lemah dan nonspesifik yang menyebabkan interaksi van der Waal's. Apabila terletak terlalu dekat, maka akan saling tolak menolak disebabkan adanya muatan negatif pada kulit electron terluar (Siswandono, 2016).

2.8.6. Ikatan Hidrofobik

Ikatan hidrofobik adalah molekul nonpolar yang tidak mengandung ion, memiliki momen dipol atau terhidrasi. Ikatan ini termasuk salah satu kekuatan penting pada proses penggabungan daerah nonpolar molekul obat dengan daerah reseptor biologis. Daerah non polar molekul obat yang tidak larut dalam air dan molekul- molekul air disekelilingnya akan bergabung melalui ikatan hidrogen membentuk struktur quasi-crystalline (*icebergs*) (Siswandono, 2016).

2.8.7. Transfer Muatan

Kompleks yang terbentuk antara dua molekul melalui ikatan hidrogen merupakan kasus khusus dari fenomena umum kompleks donor- aseptor, yang distabilkan melalui daya tarik menarik elektrostatik antara molekul donor elektron

dan molekul aseptor elektron. Baker mengelompokkan kompleks transfer muatan menjadi dua senyawa yaitu yang berfungsi sebagai donor elektron dan sebagai aseptor electron (Siswandono, 2016).

2.9. Hukum Lima Lipinski

Hukum lima Lipinski, atau disebut sebagai hukum lima Pfizer (RO5), adalah suatu hukum untuk mengevaluasi keserupaan obat atau menentukan apakah suatu senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis atau biologis tertentu memiliki sifat kimia dan sifat fisik yang akan membuatnya menjadi obat yang aktif secara oral pada manusia. Hukum tersebut dicetuskan oleh Christopher A. Lipinski pada tahun 1997, Hukum ini dibuat berdasarkan pengamatan bahwa sebagian besar obat yang diberikan melalui oral masih memiliki bioavaibilitas yang relatif kecil dalam hukum tersebut dilihat suatu sifat farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi ("ADME"). Namun, hukum tersebut tidak memprediksi apakah suatu senyawa aktif secara farmakologis (Benet *et al.*, 2016).

Tabel 2.3 Hukum 5 Lipinski (Lipinski *et al.*, 1997).

Hukum 5 Lipinski	Keterangan	Rentang
BM (g/mol)	Berhubungan dengan absorpsi, jika lebih dari 500 dalton akan sulit terabsorpsi.	<500
Log P	Nilai log koefisien partisi oktanol/air.	<+5
Hydrogen Bond Donors (HBD)	Ikatan H donor.	<5
Hydrogen Bond Acceptors (HBA)	Ikatan H reseptor.	<10
Torsion	Ikatan H yang dapat berotasi.	-
Polar Surface Area (PSA)	Daerah permukaan kutub.	<140 Å

2.10. Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk mendapatkan informasi atau data mengenai toksisitas suatu bahan (kimia) pada hewan uji. Secara umum, toksisitas dapat dikelompokkan menjadi uji toksisitas jangka pendek/akut dan uji toksisitas jangka panjang (Donatus, 2005). Uji *Ames Toxicity* adalah metode yang digunakan untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri (Kesuma *et al.*, 2018). LD₅₀ digunakan untuk menilai potensi toksisitas akut suatu bahan. LD₅₀ ditetapkan sebagai tanda pada pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (Priyanto, 2010).

Klasifikasi kelas toksisitas senyawa didasarkan pada *Globally Harmonized System* (GHS) yang terbagi dalam 6 kelas antara lain (El din *et al.*, 2016) :

1. Kelas I : (LD₅₀ ≤ 5 mg/kg) → fatal jika tertelan
2. Kelas II : (5 < LD₅₀ ≤ 50 mg/kg) → fatal jika tertelan
3. Kelas III : (50 < LD₅₀ ≤ 300 mg/kg) → beracun jika tertelan
4. Kelas IV : (300 < LD₅₀ ≤ 2000 mg/kg) → berbahaya jika tertelan
5. Kelas V : (2000 < LD₅₀ ≤ 5000 mg/kg) → bisa berbahaya jika tertelan
6. Kelas VI : (LD₅₀ > 5000 mg/kg) → tidak beracun.

2.11. Aplikasi Penunjang

2.11.1. Protein Data Bank(PDB)

Protein data bank (PDB) adalah repositori tunggal yang dapat diakses di seluruh dunia, PDB berfungsi untuk pemrosesan dan distribusi data struktur makromolekul biologis secara bentuk 3-D. PDB dapat diakses secara online dengan mengunjungi alamat <http://www.pdb.org>. Pada situs PDB memiliki program-

program sederhana yang dapat digunakan untuk melihat dan memanipulasi struktur demikian juga informasi tentang prakarsa genomik struktural yang sekarang sedang berlangsung, selain itu PDB juga biasa digunakan para peneliti untuk penelitian yang berkaitan dengan obat baru (Petsko and Dagmar, 2004).

2.11.2. *pkCSM Online Tool*

Merupakan suatu pendekatan yang dapat digunakan untuk analisis dan optimalisasi farmakokinetik dan sifat toksisitas, pkCSM dapat diakses melalui web yang tersedia yaitu (<http://structure.bioc.cam>), selain itu pkCSM banyak digunakan untuk membantu peneliti menemukan keseimbangan antara potensi, keamanan, dan farmakokinetik. *pkCSM* bekerja sebaik atau lebih baik dari beberapa metode lain yang sudah banyak digunakan (Pires *et al.*, 2015).

2.11.3. *SwissADME*

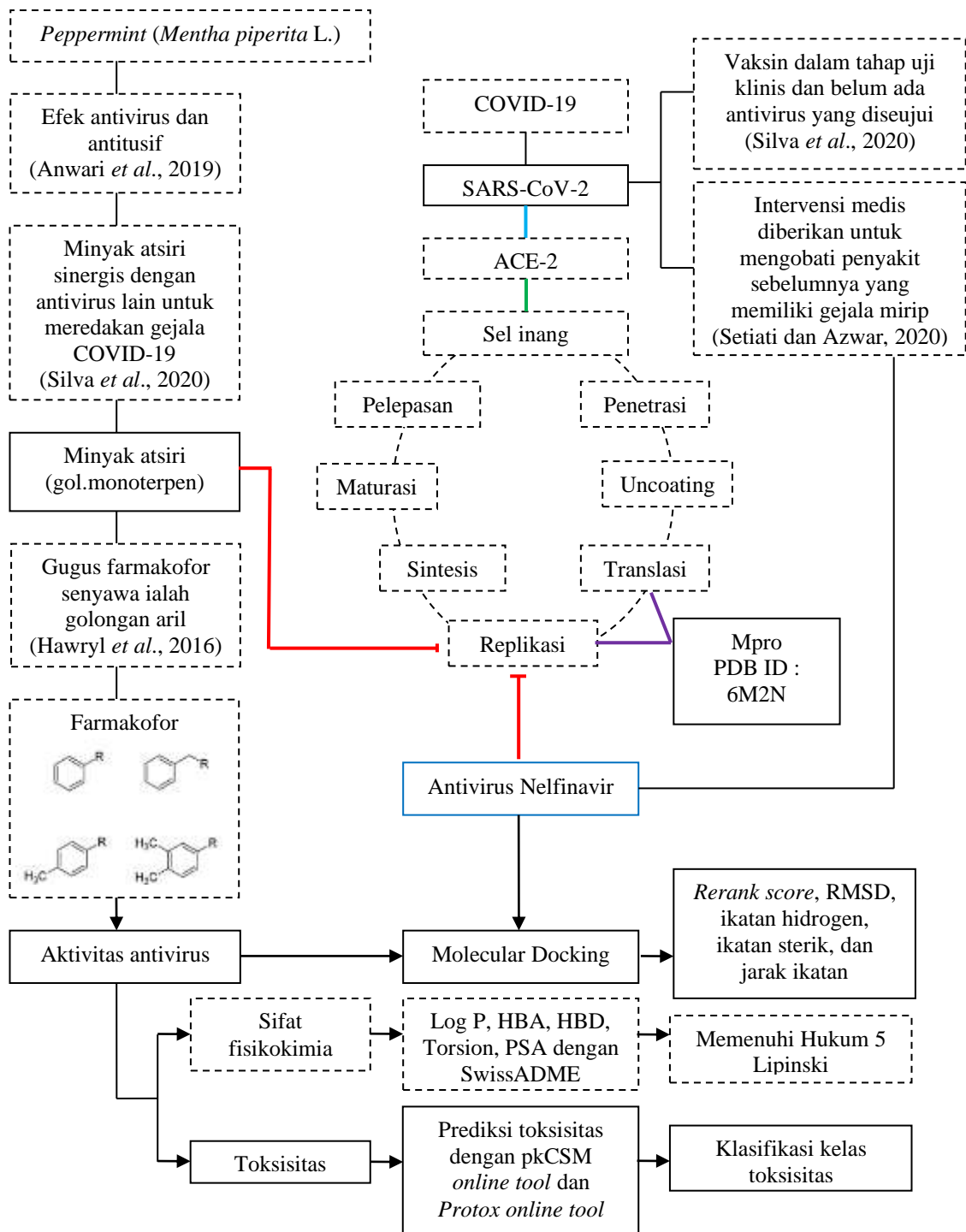
Merupakan platform gratis yang dapat diakses di web, *SwissADME* berfungsi untuk mengetahui sifat fisikokimia, farmakokinetik dalam obat, dan parameter lain terkait untuk satu atau beberapa molekul. Di satu sisi, aplikasi yang dikembangkan secara khusus dan banyak digunakan banyak sebagai penelitian. Pengguna dapat mengakses web yang bebas biaya dengan alamat yang harus dikunjungi adalah <http://www.swissadme.ch>. *SwissADME* telah dirancang untuk mendukung seluruh (spesialis dan non-spesialis) di upaya penemuan obat mereka (Daina *et al.*, 2017).

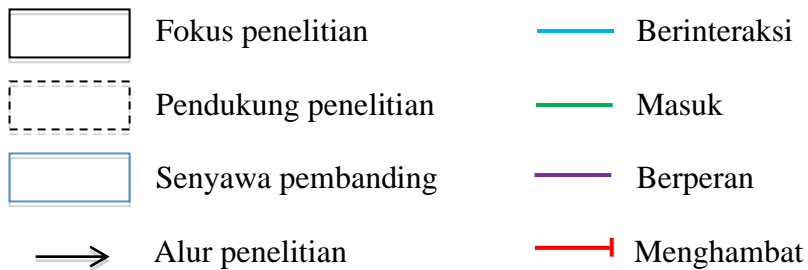
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Konseptual

3.1.1. Bagan Kerangka Konseptual



Keterangan :**3.1.2. Uraian Kerangka Konseptual**

COVID-19 merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi virus SARS CoV-2 yang dapat menyebabkan permasalahan pada sistem pernafasan, bahkan menyebabkan kematian. Jangkauan area epidemi SARS-CoV-2 lebih tinggi dibandingkan dengan SARS-CoV dan MERS-CoV. Oleh karena itu, pengobatan yang tepat dibutuhkan segera untuk mengatasi penyakit ini.

Hingga saat ini masih belum ada opsi terapi yang tersedia untuk menyembuhkan infeksi yang disebabkan oleh SARS CoV-2. Vaksin yang dikembangkan masih dalam tahap uji klinis pada manusia. Selain itu, belum ada antivirus yang disetujui, hanya beberapa obat yang mendapat izin darurat untuk digunakan (Silva *et al.*, 2020).

Sejak wabah dimulai, serangkaian intervensi medis telah diberikan kepada pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2. Namun, sebagian besar terapi ini tidak dirancang khusus untuk mengobati COVID-19, melainkan untuk mengobati penyakit sebelumnya yang memiliki gejala mirip dengan COVID-19 (Setiati dan Azwar 2020). Salah satu obat tersebut yaitu nelfinavir, dengan menggunakan pendekatan penemuan obat komputasional integratif, diperkirakan bahwa nelfinavir

adalah penghambat potensial dari *Main protease* SARS-CoV-2 dan kemungkinan besar adalah multi-agen target (Xu *et al.*, 2020). Pada proses terjadinya siklus hidup SARS-CoV-2, Mpro berperan penting dalam translasi dan replikasi virus (Jin *et al.*, 2019). Sehingga, Mpro dapat dijadikan target penghambat siklus hidup SARS-CoV-2 dalam rangka pengembangan obat antivirus. Pengembangan ini dapat diperoleh dari tanaman yang berpotensi sebagai antivirus.

Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dijadikan terapi SARS-CoV-2 yaitu tanaman *Peppermint* yang memiliki aktivitas antivirus serta efek antitusif (Anwar *et al.*, 2019). Komponen minyak atsiri dari *Peppermint* dapat bertindak sinergis atau mempotensiasi agen antivirus lain atau dapat meredakan gejala COVID-19 (Silva *et al.*, 2020). Minyak atsiri tersebut termasuk kedalam senyawa golongan monoterpen yang terdiri dari *limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone*.

Senyawa golongan monoterpen pada *Peppermint* dilakukan studi pendahuluan prediksi sifat fisikokimia menggunakan kode *SMILES (situs SwissADME) sehingga dapat diketahui berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Atom* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), jumlah ikatan atom yang dapat berotasi (Torsion), dan *Polar Surface Activity* (PSA) untuk mengetahui apakah senyawa tersebut memenuhi Hukum 5 Lipinski. Selanjutnya, dilakukan uji toksisitas menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox Online Tool* untuk mengetahui toksisitas dan menentukan klasifikasi toksisitas senyawa tersebut.

Senyawa golongan monoterpen pada *Peppermint* selanjutnya digunakan sebagai ligan dan reseptor COVID-19 yang dipilih untuk dilakukan proses penambatan molekuler yaitu *Main protease* (Mpro) dengan PDB ID 6M2N yang berperan dalam pematangan proteolitik virus. Penyiapan ligan dilakukan menggunakan *software Chem Bio Draw Ultra* versi 12 dan *Chem Bio 3D Ultra* versi 12. Selanjutnya dilakukan proses *docking* antara ligan dan reseptor. Perbedaan tempat reseptor akan menimbulkan interaksi dan afinitas yang berbeda yang ditandai dengan ikatan hidrogen, ikatan sterik, interaksi asam amino pada reseptor, serta energi ikatan yang digambarkan dengan nilai *Rerank Score* (RS).

3.2. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan interaksi dan afinitas senyawa golongan monoterpen *Peppermint* terhadap reseptor 6M2N secara *in silico*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental laboratoris secara *in silico* dari senyawa *limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone* dengan reseptor *Main protease* (Mpro) PDB ID 6M2N menggunakan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* versi 12, *Chem Bio 3D Ultra* versi 12, *Molegro Virtual Docker* 6.0 (*Molegro ApS*), *SwissADME*, dan *pkCSM online tool*.

4.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari - April 2021 di Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah senyawa golongan monoterpen *Peppermint* (*limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone*).

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah nilai RMS, *Rerank Score*, ikatan hidrogen, ikatan sterik, jarak ikatan, berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Atom* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), jumlah ikatan atom yang dapat berotasi (Torsion), *Polar Surface Activity* (PSA), LD₅₀, *skin sesnsitilization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah reseptor *Main Protease* (Mpro) PDB ID 6M2N, *Chem Bio Draw Ultra* Versi 12 (*Cambridge Soft*), *Chem Bio 3D Ultra* Versi 12 (*Cambridge Soft*), *Molegro Virtual Docker* 6.0 (*Molegro ApS*), *pkCSM Online Tool*, *Protox Online Tool*, *SwissADME*, dan *SPSS Statistics* 26.0 for *Windows*.

4.3.2. Definisi Operasional

Tabel 4.1. Parameter Uji Fisikokimia

Hukum 5 Lipinski	Keterangan	Rentang
BM (g/mol)	Berhubungan dengan absorpsi, jika lebih dari 500 dalton akan sulit terabsorpsi.	<500
Log P	Nilai log koefisien partisi oktanol/air.	<+5
<i>Hydrogen Bond Donors</i> (HBD)	Ikatan H donor.	<5
<i>Hydrogen Bond Acceptors</i> (HBA)	Ikatan H reseptor.	<10
Torsion	Ikatan H yang dapat berotasi.	-
<i>Polar Surface Area</i> (PSA)	Daerah permukaan kutub.	<140 Å

Tabel 4.2. Parameter Uji Sitotoksik

Nama Parameter	Parameter	Keterangan
LD ₅₀	Kelas I : (LD ₅₀ ≤ 5 mg/kg)	Fatal jika tertelan
	Kelas II : (5 < LD ₅₀ ≤ 50 mg/kg)	Fatal jika tertelan
	Kelas III : (50 < LD ₅₀ ≤ 300 mg/kg)	Beracun jika tertelan

	Kelas IV : $(300 < LD_{50} \leq 2000 \text{ mg/kg})$ Kelas V : $(2000 < LD_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg})$ Kelas VI : $(LD_{50} > 5000 \text{ mg/kg})$	Berbahaya jika tertelan Bisa berbahaya jika tertelan Tidak beracun (El din <i>et al.</i> , 2016)
<i>Ames Toxicity</i>	Yes/No	Bertujuan untuk mengetahui dari potensi mutagenic pada senyawa secara <i>in silico</i> (Kesuma <i>et al.</i> , 2018)
<i>Skin Sensitization</i>	Yes/No	Uji ini dilakukan untuk mengetahui reaksi sensitivitas pada kulit secara <i>in silico</i> (Kesuma <i>et al.</i> , 2018)
<i>Hepatotoxicity</i>	Yes/No	Uji ini dilakukan untuk mengetahui adanya toksisitas senyawa terhadap hepar secara <i>in silico</i> (Rahman <i>et al.</i> , 2018)

Tabel 4.3 Parameter Docking

Parameter	Keterangan	Standar
RMSD	Menunjukkan kesesuaian koordinat ligan dari hasil kristalografi dibandingkan dengan koordinat ligan yang ditambahkan.	Nilai RMSD $\leq 2 \text{ \AA}$
<i>Rerank Score</i>	Digambarkan sebagai prediksi interaksi ikatan antara obat dengan reseptor.	Nilai harus $< \text{native ligand}$, semakin kecil menunjukkan besar tingkat keserasian antara ligan dan reseptor berinteraksi.
Ikatan Sterik	Ikatan sterik dapat memberikan tempat bagi ikatan hidrogen dengan asam amino yang aktif sehingga akan menstabilkan	Lebih banyak ikatan yang terjadi dari pembanding, maka lebih bagus.

	suatu ikatan.	
Ikatan Hidrogen	Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara hidrogen dengan atom O,N,F	Lebih banyak ikatan yang terjadi dari pembanding maka lebih baik.
Jarak Ikatan	Jarak antara atom ligan dan atom pada reseptor pada suatu interaksi ikatan.	Nilai jarak ikatan lebih tinggi dari pembanding maka lebih baik.

4.4. Alat dan Bahan Penelitian

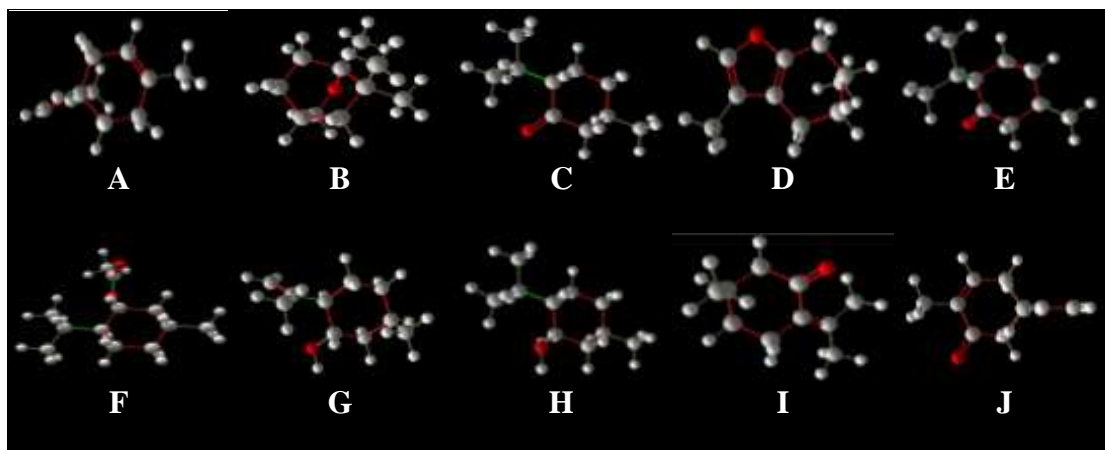
4.4.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa perangkat keras berupa satu set laptop Asus X441BA dengan spesifikasi *Processor* AMD A9-9425 *RADEON R5, 5 COMPUTE CORES* 2C+3G, *RAM* 4 GB, dan harddisk 1 Tera serta perangkat lunak sistem operasi *Windows 10 Home*, *Chem Bio Draw Ultra* Versi 12 (*Cambridge Soft*), *Chem Bio 3D Ultra* Versi 12 (*Cambridge Soft*), *Molegro Virtual Docker* 6.0 (*Molegro ApS*), *pkCSM Online Tool*, *Protox Online Tool*, *SwissADME* dan *SPSS Statistics 26.0 for Windows*.

4.4.2. Bahan

4.4.2.1. Struktur Senyawa dan Pembanding Nelfinavir

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur dari senyawa golongan monoterpen *Peppermint* (*controllimonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone*) serta senyawa pembanding nelfinavir digambar strukturnya dengan menggunakan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* Versi 12 (*Cambridge Soft*), *Chem Bio 3D Ultra*.



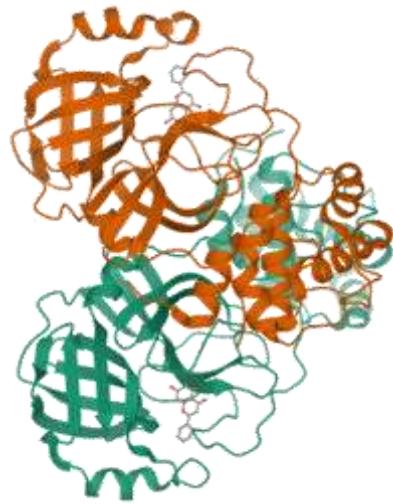
Gambar 4.1 Struktur (A) *limonene*, (B) *cineole*, (C) *menthone*, (D) *menthofuran*, (E) *isomenthone*, (F) *menthylacetate*, (G) *isopulegol*, (H) *menthol*, (I) *pulegone* dan (J) *carvone*.



Gambar 4.2 Struktur senyawa pembanding nelfinavir

4.4.2.2. Struktur Reseptor 6M2N

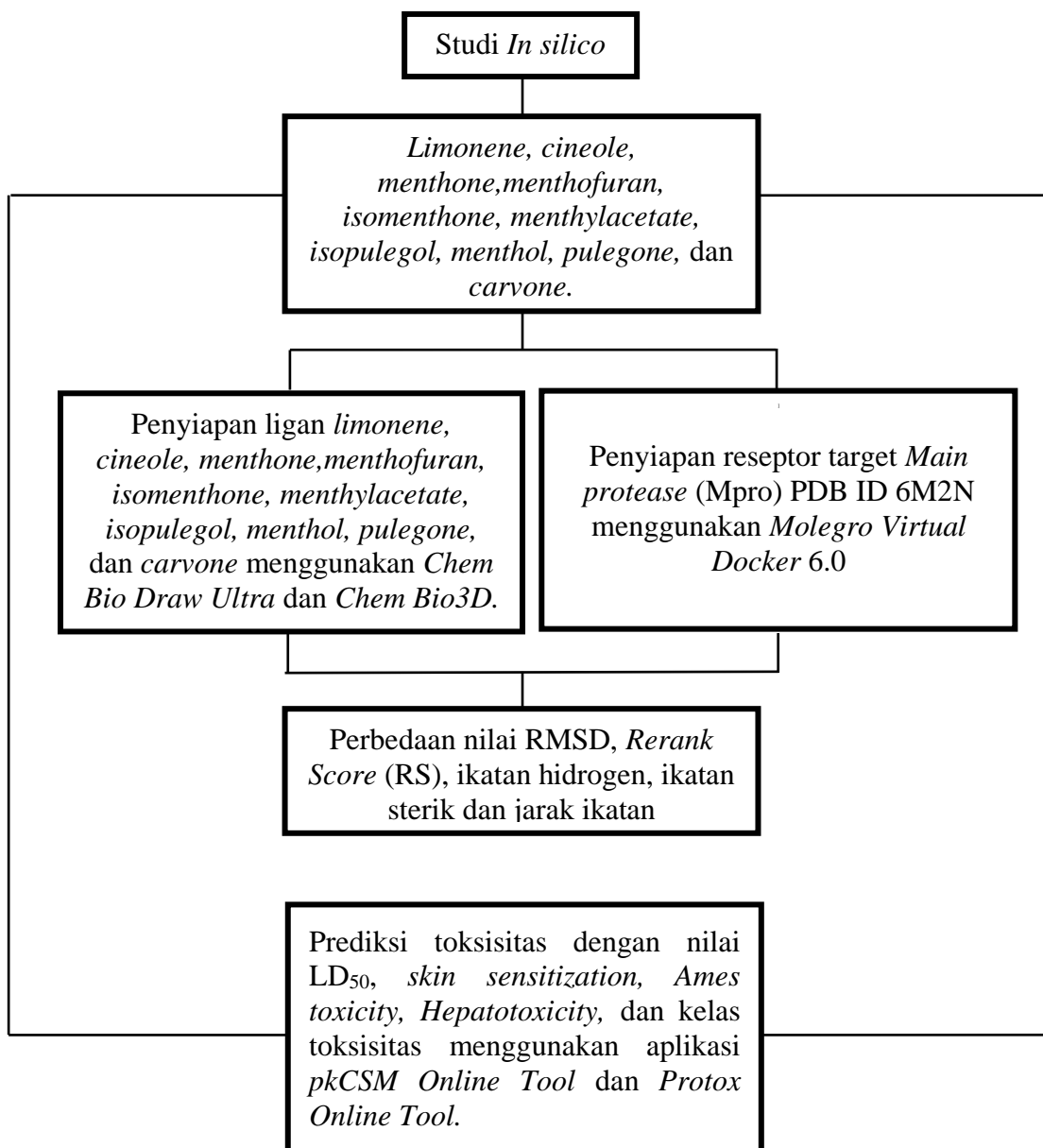
Struktur tiga dimensi *Main protease* (Mpro) dengan PDB ID 6M2N sebagai protein reseptor COVID-19 yang diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/6m2n>.



Gambar 4.3 Reseptor *Main protease* (Mpro) COVID-19 dengan PDB ID 6M2N

4.5. Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian

4.5.1. Skema Kerja Penelitian



4.5.2. Prosedur Penelitian

4.5.2.1. Preparasi Ligan

Struktur untuk ligan *Peppermint* (*Mentha piperita* L) didapatkan dari PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) dalam format Sdf dengan senyawa Nelfinavir sebagai pembanding. Selanjutnya, dilakukan proses preparasi ligan dengan menggambar struktur molekul 2D dengan software *Chem Bio Draw Ultra* Versi 12, kemudian dicopy pada *software Chem Bio 3D Ultra* Versi 12 untuk membuat struktur 3D. Langkah berikutnya, dilakukan minimalisasi energi dengan metode MMFF94 untuk melihat bentuk streokimia senyawa dan bentuk paling stabil, kemudian direplikasi sebanyak 3 kali, dirata-rata, dan disimpan dalam format SYBYL (*.mol2).

4.5.2.2. Preparasi Protein Reseptor

Preparasi protein reseptor dilakukan dengan *software Molegro Virtual Docker* 6.0. Pada tahapan ini dilakukan eliminasi molekul air dan ligan referensi serta penambahan atom hidrogen.

4.5.2.3. Penambatan Molecular Docking

Penambatan *molekular docking* dilakukan dengan menggunakan *software Molegro Virtual Docker* 6.0 (*Molegro ApS*). Terdapat beberapa langkah dalam proses *docking* yaitu :

1. Mengunduh reseptor dari situs Protein Data Bank. Reseptor yang diunduh adalah *Main protease* (Mpro) Covid dengan PDB ID 6M2N.
2. Menambahkan atom H pada reseptor (karena reseptor yang diunduh dihilangkan atom H-nya) dan memperbaiki reseptor yang diunduh.

3. Deteksi tempat pada reseptor dimana obat akan terikat (berinteraksi).
Tempat tersebut berupa lubang-lubang (*cavities*) pada struktur reseptor.
4. Meletakkan struktur 3D ke dalam lubang yang terpilih.
5. Melihat gambaran (*view*) letak senyawa dalam lubang reseptor (*cavities*).
6. Melakukan *docking* senyawa pada reseptor yang diproses secara otomatis oleh *software Molegro Virtual Docker* dan dicatat hasil dari masing-masing parameter.

4.5.2.4. Prediksi Toksisitas

Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggambar struktur molekul senyawa 2D dengan *software Chem Bio Draw Ultra* Versi 12, kemudian dicopy pada *software Chem Bio 3D Ultra* Versi 12 untuk membuat struktur 3D, selanjutnya disimpan dalam bentuk file *.sdf atau *.pdb. Berikutnya mencari code SMILES senyawa *limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone* dengan cara mengubah struktur 2D melalui menu edit dan di *copy as* menjadi *code SMILES*. Lalu *code SMILES* dicopy pada *microsoft word* atau *microsoft excel* dan disimpan untuk melakukan uji. Dalam bentuk format *SMILES* inilah senyawa diproses menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox Online Tool*.

4.6. Analisis Data.

Analisis data dari hasil *docking* diketahui dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), *Rerank Score* (RS), ikatan hidrogen, ikatan sterik dan jarak ikatan. Analisis data toksisitas senyawa *limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone*

dikategorikan kelas toksisitasnya menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox Online Tool*. Pada pengujian ini dilakukan validasi sebanyak 3 kali sehingga didapatkan hasil yang lebih valid. Hasil yang diperoleh, dipaparkan dalam bentuk tabel statistik menggunakan aplikasi *SPSS Statistics 26.0 for Windows* dengan metode *Kruskall-Wallis*. Uji ini dapat mengetahui senyawa uji lebih baik dibandingkan dengan pembanding dengan melihat perbedaan nilai rata-rata *Rerank Score*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengembangan obat baru menggunakan metode *in silico* atau bioinformatika dengan penambatan molekul (*molecular docking*) termasuk dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Semua yang diciptakan Allah SWT yang ada di muka bumi merupakan anugerah yang dapat dipergunakan dan dimanfaatkan untuk kesejahteraan manusia. Sesuai dengan firman Allah SWT dalam QS. Shad ayat 27 yang berbunyi :

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا
مِنَ النَّارِ

Artinya : Kami tidak menciptakan langit dan bumi serta apa yang ada di antara keduanya secara sia-sia. Itulah anggapan orang-orang yang kufur. Maka, celakalah orang-orang yang kufur karena (mereka akan masuk) neraka (QS.Shad : 27)

Makna dari ayat tersebut dalam tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Allah SWT tidaklah menciptakan sesuatu dengan sia-sia. Akan tetapi, untuk beribadah kepada-Nya dan mengesakan-Nya (Bin Ishaq Alu Syaikh, 2004). Manusia telah dianugerahi akal oleh Allah SWT untuk berfikir dan mempergunakan teknologi yang telah ada dengan mengkorelasikan antara ayat *qauliyah* dan *kauniyah* agar mampu menemukan konsep-konsep sains dan ilmu pengetahuan (Qutub, 2011).

Pengetahuan mengenai sebuah manfaat bermula dari suatu penelitian, salah satunya yakni tentang *in silico* atau bioinformatika kemudian mengkajinya untuk mengetahui manfaat ciptaan-Nya.

Sebagaimana firman Allah SWT dalam QS. Al-Jatsiyah ayat 13 yang berbunyi :

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمُوتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya : Dia telah menundukkan (pula) untukmu apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi semuanya (sebagai rahmat) dari-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir (QS.Al-Jatsiyah :13)

Makna dari ayat tersebut dalam tafsir Al-Mishbah menjelaskan Allah SWT memerintahkan manusia yang telah diberi nikmat berupa akal dan pikiran untuk mengkaji segala sesuatu yang ada di langit dan bumi. Allah SWT menciptakan manusia sebagai makhluk yang paling istimewa. Oleh karena itu, dengan kelengkapan akal dan pikiran manusia diharapkan mampu memaksimalkan penggunaan teknologi yang telah berkembang pesat untuk mengkaji ciptaan Allah SWT, salah satunya yaitu tumbuhan yang memiliki banyak manfaat (Shihab, 2002).

Studi *in silico* (*molecular docking*) pada penelitian ini dilakukan terhadap senyawa monoterpen tanaman *Peppermint*. Senyawa monoterpen *Peppermint* memiliki kemampuan untuk menghentikan proses replikasi SARS-CoV dan dapat digunakan sebagai terapi SARS-CoV-2 karena kesamaan materi genetiknya (Patne *et al.*, 2020). Komponen minyak atsiri *Peppermint* yang merupakan sumber monoterpen memungkinkan mampu menghambat kerja dari SARS-CoV-2. Selain itu, dapat bertindak sinergis atau mempotensiasi agen antivirus lain dan meredakan gejala COVID-19 (Silva *et al.*, 2020)

5.1. *Molecular Docking* dan Analisis Asam Amino

Molecular docking merupakan metode yang digunakan dalam biologi molekuler struktural dengan bantuan komputer untuk desain obat/ligan. Tujuan dari

docking protein dan ligan yakni untuk memprediksi interaksi antara ligan dengan protein target pada struktur tiga dimensi (Puspaningtyas, 2013). Setelah dilakukan proses *docking* selanjutnya yaitu melakukan analisis asam amino dengan melihat interaksi yang terjadi. Interaksi ini digunakan untuk mengetahui adanya interaksi ligan dengan residu asam amino pada protein (reseptor) (Arwansyah dkk, 2014). Residu asam amino merupakan asam amino yang terdapat dalam suatu protein (Murray *et al.*, 2000). Protein yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Main protease* (Mpro) dengan PDB ID 6M2N yang berperan dalam translasi dan replikasi virus.

5.2. Pengunduhan Target Protein

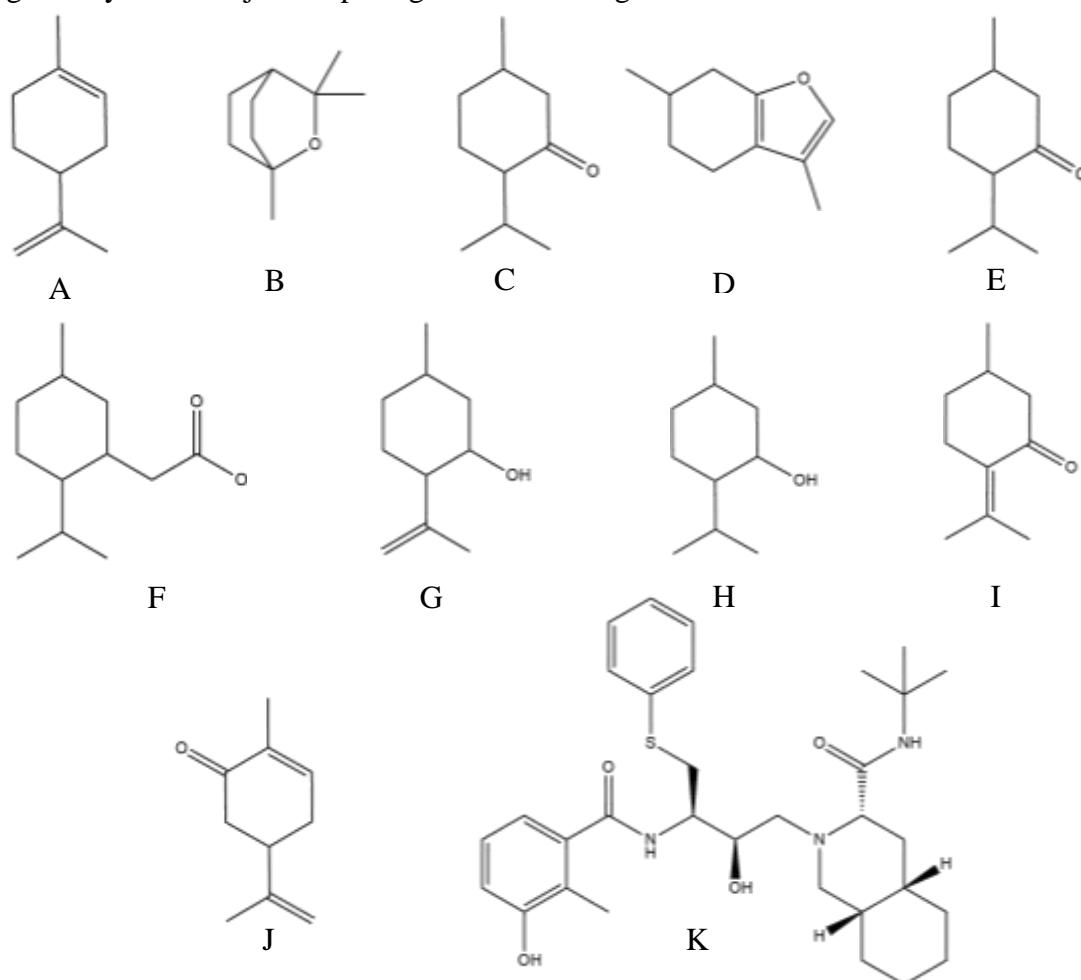
Target protein reseptor *Main protease* (Mpro) SARS-CoV-2 diunduh melalui situs (<https://www.rcsb.org/structure/6m2n>) dengan format *pdb. Pencarian dan pengunduhan reseptor berdasarkan protein reseptor yang telah memiliki ligan. Protein reseptor Mpro yang digunakan pada penelitian yaitu protein dengan PDB ID 6M2N.



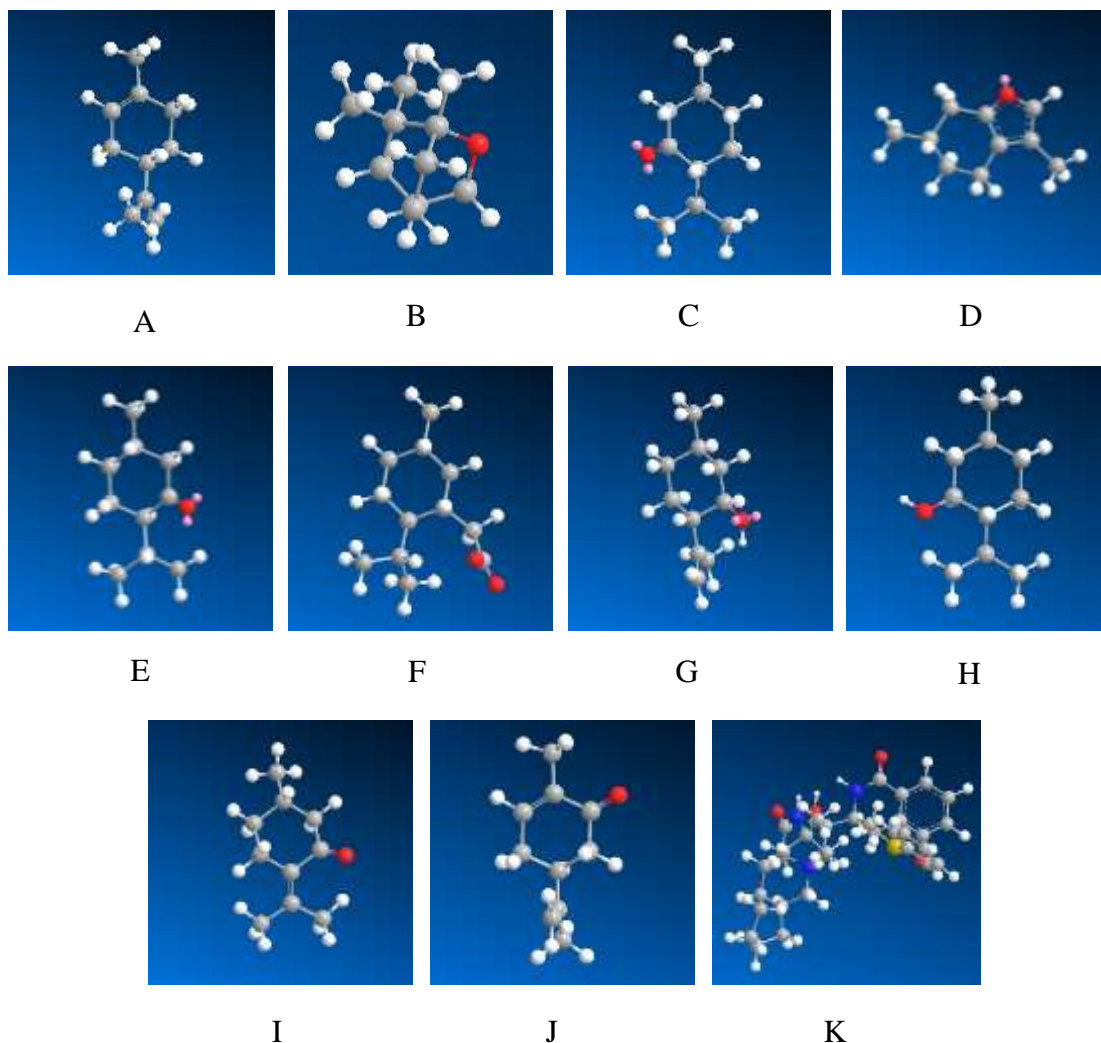
Gambar 5.1 Hasil pengunduhan protein target *Main protease* (Mpro) PDB ID 6M2N (RCSB PDB, 2020)

5.3. Preparasi Ligan dan Reseptor

Sebelum dilakukan *uji in silico*, terlebih dahulu dilakukan proses preparasi terhadap ligan dan reseptor. Preparasi ligan dilakukan dengan menggambar terlebih dahulu menggunakan *software Chem Bio Draw Ultra 12.0*. Gambar struktur 2D ligan/senyawa digunakan untuk mendapatkan struktur 3D dengan menggunakan *software Chem Bio 3D Ultra 12.0*, hal tersebut dikarenakan pada semua tahapan *docking* menggunakan model struktur 3D. Hasil gambar struktur 2D dan 3D ligan/senyawa ditunjukkan pada gambar 5.2 dan gambar 5.3.



Gambar 5.2 Hasil penggambaran struktur dua dimensi senyawa monoterpen *Peppermint* menggunakan *Chem Bio Draw Ultra 12.0* (A) limonene, (B) cineole, (C) menthone, (D) menthofuran, (E) isomenthone, (F) menthylacetate, (G) isopulegol, (H) menthol, (I) pulegone, (J) carvone dan (K) nelfinavir

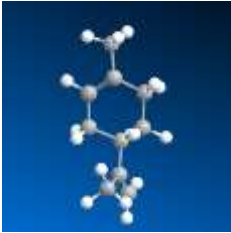
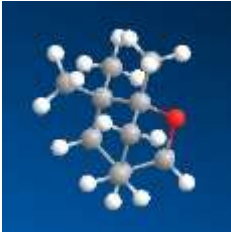
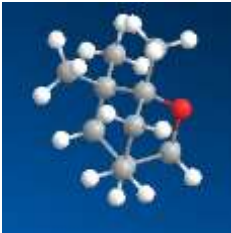
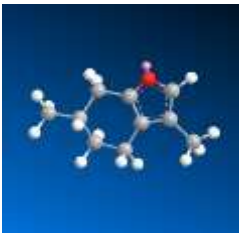


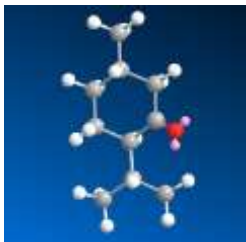
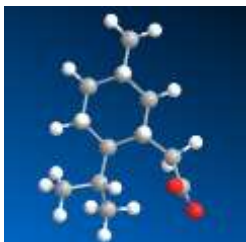
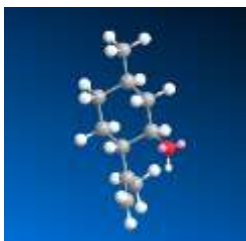
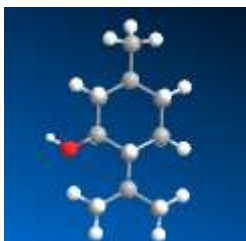
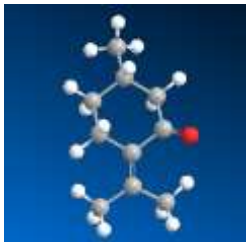
Gambar 5.3 Hasil penggambaran struktur tiga dimensi senyawa monoterpen *Peppermint* menggunakan *Chem Bio 3D Ultra 12.0* (A) *limonene*, (B) *cineole*, (C) *menthone*, (D) *menthofuran*, (E) *isomenthone*, (F) *menthylacetate*, (G) *isopulegol*, (H) *menthol*, (I) *pulegone*, (J) *carvone* dan (K) *nelfinavir*

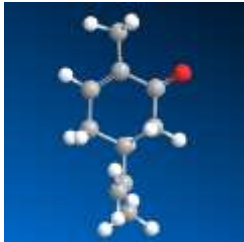
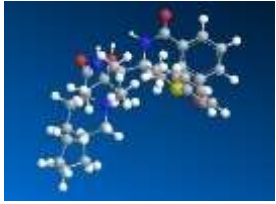
Setelah didapatkan struktur tiga dimensi, selanjutnya dilakukan minimalisasi energi. Penentuan energi minimalisasi didapatkan dengan melakukan optimasi geometri menggunakan *software Chem Bio 3D Ultra 12.0* dengan metode *Merck Molecular Force Field 94* (MMF94). Optimasi geometri dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan dihasilkan bentuk stereokimia yang paling stabil dan disimpan dengan format *.mol2. Penentuan energi minimal digunakan untuk meminimalisasi

energi agar diperoleh struktur yang paling stabil untuk dilakukan *docking* dengan reseptor target (Susanti *et al.*, 2018). Hasil optimasi geometri senyawa monoterpen *Peppermint* dan nelfinavir ditunjukkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil penentuan energi minimal (kcal/mol) senyawa monoterpen *Peppermint* dengan MMFF94 pada aplikasi *Chem 3D Pro 12.0*

Senyawa	Struktur 3D	Energi Minimal (kcal/mol)			Rerata (kcal/mol) \pm SD
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
<i>Limonene</i>	 1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-ene	6.1332	6.1332	6.1332	6.1332 \pm 0,0000
<i>Cineole</i>	 1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2] octane	27.6532	27.6532	27.6532	27.6532 \pm 0,0000
<i>Menthone</i>	 2-isopropyl-5-methylcyclohexanone	11.8274	11.8274	11.8274	11.8274 \pm 0,0000
<i>Menthofuran</i>	 3,6-dimethyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran	9.8968	9.8968	9.8968	9.8968 \pm 0,0000

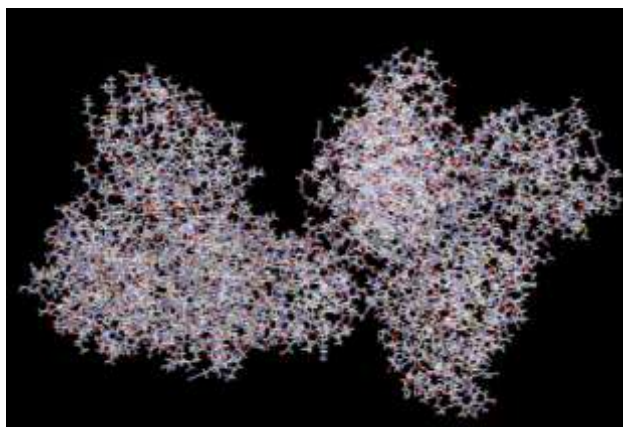
<i>Isomenthone</i>	 <p>2-isopropyl-5-methylcyclohexanone</p>	11.8274	11.8274	11.8274	11.8274 $\pm 0,0000$
<i>Menthylacetate</i>	 <p>2-(2-isopropyl-5-methylcyclohexyl) acetate</p>	18.049	18.049	18.049	18.049 $\pm 0,0000$
<i>Isopulegol</i>	 <p>5-methyl-2-(prop-1-en-2-yl) cyclohexanol</p>	7.5507	7.5507	7.5507	7.5507 $\pm 0,0000$
<i>Menthol</i>	 <p>2-isopropyl-5-methylcyclohexanol</p>	14.6543	14.6543	14.6543	14.6543 $\pm 0,0000$
<i>Pulegone</i>	 <p>5-methyl-2-(propan-2-ylidene) cyclohexanone</p>	16.2117	16.2117	16.2117	16.2117 $\pm 0,0000$

Carvone	 2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-2-enone	5.4386	5.4386	5.4386	5.4386 \pm 0,0000
Nelfinavir	 (3S,4aS,8aS)-N-(tert-butyl)-2-((2R,3R)-2-hydroxy-3-(3-hydroxy-2-methylbenzamido)-4-(phenylthio)butyl)decahydroisoquinoline-3-carboxamide	55.6076	55.6076	55.6076	55.6076 \pm 0,0000

Hasil optimasi pada tabel 5.1 diatas didapatkan nilai rerata dan nilai standar deviasi (\pm SD) energi minimal paling kecil yaitu senyawa *carvone* sebesar 5,4386 kkal/mol, sedangkan energi minimal yang paling besar yaitu pada senyawa nelfinavir dengan nilai 55,6076 kkal/mol. Energi tersebut merupakan rerata energi seminimal mungkin pada bentuk stereokimia dan bentuk yang paling stabil untuk dilakukan *docking*.

Setelah dilakukan preparasi ligan/senyawa, selanjutnya dilakukan preparasi reseptor. Preparasi terhadap protein yang akan digunakan merupakan langkah penting untuk dilakukan agar mendapatkan hasil docking yang optimal (Muchtaridi *et al.*, 2018). Reseptor yang telah diunduh melalui data file PDB (*Protein Data Bank*) dengan PDB ID 6M2N dengan natif ligan *5,6,7-trihydroxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one*. Protein tersebut ditinjau menggunakan *software Molegro Virtual*

Docker (MVD) ditunjukkan oleh gambar 5.4. Program MVD akan secara otomatis mengoreksi protein yang ditambahkan ke *workspace* dan secara langsung menambahkan atom H dan mengoreksi apabila ada beberapa asam amino residu yang salah baik valensi maupun muatannya (CLCbio, 2013). Program akan memunculkan *warning* apabila terdapat struktur protein yang *error*.



Gambar 5.4 Reseptor 6M2N

Langkah berikutnya yaitu sebelum dilakukan prediksi toksisitas, terlebih dahulu dilakukan pembuatan *code SMILES*. Pembuatan *code SMILES* dilakukan menggunakan *software Chem Bio Draw Ultra 12.0*, langkah ini dilakukan setelah menggambar senyawa monoterpen *Peppermint* dan obat pembanding (nelfinavir) dalam bentuk 2D. Selanjutnya, struktur 2D diubah melalui melalui menu edit dan di *copy as* menjadi *code SMILES*. Lalu *code SMILES* dicopy pada *microsoft word* atau *microsoft excel* dan disimpan untuk melakukan uji selanjutnya. Hasil pembuatan *code SMILES* senyawa monoterpen *Peppermint* (nelfinavir) ditunjukkan pada tabel 5.2.

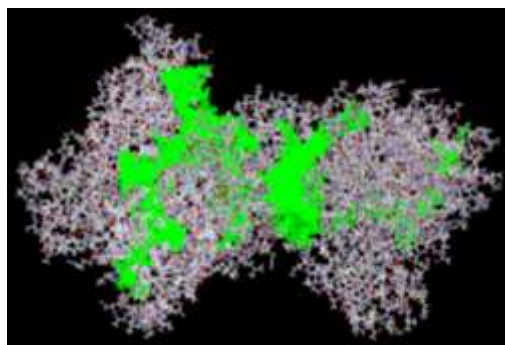
Tabel 5.2 Hasil *code SMILES* senyawa monoterpen *Peppermint* dan nelfinavir dengan *ChemDraw Ultra 12.0*

Nama Senyawa	Code SMILES
<i>Limonene</i>	<chem>CC1=CCC(CC1)C(C)=C</chem>
<i>Cineole</i>	<chem>CC1=CCC(CC1)C(C)=C</chem>
<i>Menthone</i>	<chem>CC(C1)CCC(C(C)C)C1=O</chem>
<i>Menthofuran</i>	<chem>CC(CC1)CC2=C1C(C)=CO2</chem>
<i>Isomenthone</i>	<chem>CC(C1)C]]CC(C(C)C)C1=O</chem>
<i>Menthylacetate</i>	<chem>O=C([O-])CC1C(C(C)C)CCC(C)C1</chem>
<i>Isopulegol</i>	<chem>CC1CC(O)C(C(C)=C)CC1</chem>
<i>Menthol</i>	<chem>CC1CCC(C(C)C)C(O)C1</chem>
<i>Pulegone</i>	<chem>CC1CC(/C(CC1)=C(C)/C)=O</chem>
<i>Carvone</i>	<chem>CC1=CCC(C(C)=C)CC1=O</chem>
Nelfinavir	<chem>O=C([C@H]1N(C[C@@H](O)[C@@H](NC(C2=CC=CC(O)=C2C)=O)CSC3=CC=CC=C3)C[C@@]4([H])CCCC[C@@]4([H])C1)NC(C)(C)C</chem>

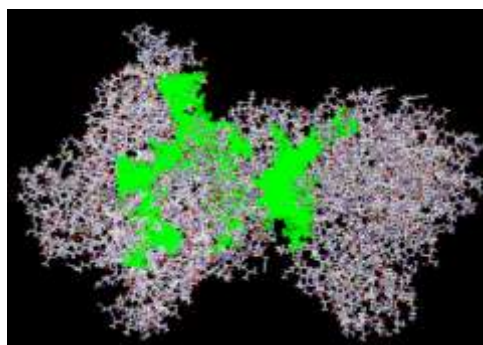
Code SMILE senyawa monoterpen *Peppermint* dan senyawa pembanding (nelfinavir) digunakan untuk proses prediksi toksisitas menggunakan *pkCSM Online Tool* dan *Protox Online Tool*.

5.4. Penentuan *Cavity*

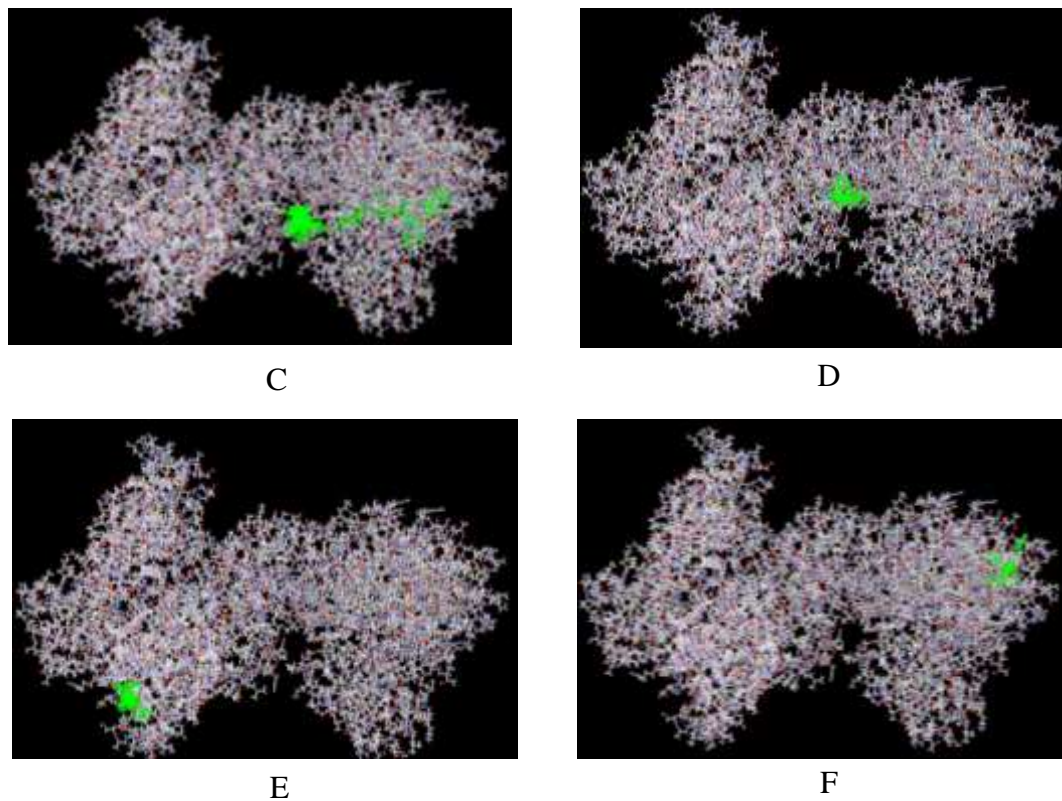
Penentuan lubang (*cavity*) berfungsi untuk mendeteksi tempat interaksi antara ligan dan reseptor 6M2N. Lubang (*cavity*) pada reseptor ditunjukkan dengan pola berwarna hijau. Hasil penentuan *cavity* ditunjukkan pada gambar 5.5 dan 5.6.



A



B



Gambar 5.5 Hasil deteksi lubang (*cavity*) pada reseptor 6M2N (A) *cavity* secara keseluruhan, (B) *cavity* 1, (C) *cavity* 2, (D) *cavity* 3, (E) *cavity* 4, (F) *cavity* 5

Keterangan Gambar 5.5 :

Cavity 1 Vol = 4692,99 Surface = 12706,6

Cavity 2 Vol = 932,864 Surface = 2443,52

Cavity 3 Vol = 260,068 Surface = 871,68

Cavity 4 Vol = 140,288 Surface = 387,84

Cavity 5 Vol = 132,196 Surface = 433,92

Pada gambar 5.5 menunjukkan adanya 5 lubang (*cavity*) yang dimungkinkan akan berinteraksi dengan reseptor 6M2N. Dari kelima lubang yang terdeteksi, dilakukan seleksi dengan melihat pada bagian natif ligan yang berinteraksi dengan reseptor 6M2N. Lubang yang digunakan adalah *cavity* 4 dengan volume 140,288 dan luas permukaan 387,84.

5.5. Pengaturan Molegro Virtual Docking

Sebelum melakukan tahap validasi dan *docking* menggunakan *software Molegro Virtual Docker* (MVD), terlebih dahulu dilakukan pengaturan mengenai parameter-parameter pada program. Berikut merupakan pengaturan yang dilakukan pada *software Molegro Virtual Docker*.

- a. *Scoring Function* :
 - Score* : *MolDock Score [GRID]*
 - Grid resolution (Å)* : 0,30 Å
 - Ligand evaluation* : *Internal ES, Internal HBond, Sp2-Sp2 Torsions*
- b. *Search Algorithm*
 - Algorithm* : *MolDock Optimizer*
 - Number of runs* : 10
 - After docking* : *Energy minimization, Optimize H-Bonds*
- c. *Parameter Setting*
 - Max iterations* : 1500
 - Max population size* : 50
 - Max steps* : 300
- d. *Multiple Poses* : *Enable energy threshold*

5.6. Validasi Reseptor 6M2N

Validasi reseptor dilakukan dengan cara *docking* ulang natif ligan dengan reseptor target 6M2N menggunakan *software Molegro Virtual Docker 6.0*. Parameter validasi yang digunakan yaitu dengan melihat nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Nilai RMSD digunakan untuk mengukur kemiripan koordinat

(*pose*) antara dua atom (Kufareva and Abagyan, 2012). Reseptor dinyatakan valid dan dapat dilanjutkan proses *docking* senyawa uji jika memiliki nilai $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$ (Muttaqin *et al.*, 2019). Hasil validasi reseptor ditunjukkan pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil validasi reseptor 6M2N

Ligan	3WL_401 [A]			Rerata \pm SD
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
Nilai RMSD (\AA)	0,33	0,33	0,32	$0,327 \pm 0,0058$
<i>Rerank Score</i> (kkal/mol)	-85,5094	-85,4543	-85,568	$-85,511 \pm 0,0569$
<i>Moldock Score</i> (kkal/mol)	-104,078	-104,062	-104,075	$-104,072 \pm 0,0085$

Validasi reseptor dilakukan replikasi sebanyak tiga kali dengan melakukan *docking* ulang antara natif ligan dengan lubang (*cavity* 4) reseptor protein target 6M2N. Reseptor 6M2N memiliki 4 protein yang berbeda diantaranya yaitu 3WL_401 [A], 3WL_401 [B], 3WL_401 [C] dan 3WL_401 [D]. Protein yang digunakan yaitu protein 3WL_401 [A] yang berikatan dengan *cavity* 4. Berdasarkan hasil validasi reseptor pada tabel 5.3, didapatkan nilai rerata RMSD sebesar $0,327 \text{ \AA}$.

RMSD menerangkan terkait nilai jarak atom pada satu konformasi dengan atom terdekat yang mempunyai kategori sama dengan atom tersebut pada konformasi lain. Semakin kecil nilai RMSD menampilkan bahwa posisi ligan yang diperkirakan semakin baik, sebab semakin mendekati konformasi asal (Lestari, 2015). Hasil tersebut menunjukkan telah memenuhi kriteria validasi reseptor, karena bila hasil penambatan ligan standar memiliki nilai $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$, maka parameter penambatan dapat diterima atau dinyatakan valid (Zubair *et al.*, 2020).

5.7. Docking Senyawa Monoterpen *Peppermint* dan Nelfinavir pada

Reseptor 6M2N

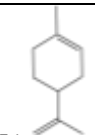
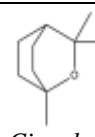
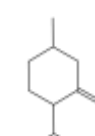
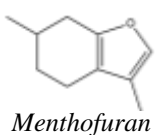
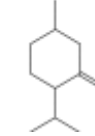
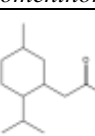
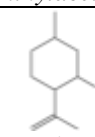
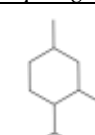
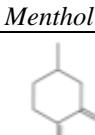
Docking senyawa monoterpen *Peppermint* dan nelfinavir dilakukan menggunakan *software Molegro Virtual Docker 6.0* dengan koordinat tempat natif ligan pada reseptor 6M2N. Terdapat 3 parameter yang digunakan diantaranya yaitu *MolDock Score*, *Rerank Score* dan *H-bond* (ikatan hidrogen). Ketiga parameter tersebut merupakan *score* yang dapat mengukur kekuatan ikatan obat dengan reseptor (CLCbio, 2013). Nilai *Rerank Score* mencerminkan energi ikatan (perhitungan total dari semua ikatan yang ada) yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor, sehingga dapat digunakan untuk memprediksi aktivitas suatu senyawa (Zaidan *et al.*, 2019).

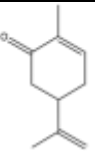
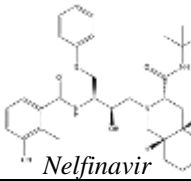
5.7.1. Hasil Docking Senyawa Monoterpen *Peppermint* dan Nelfinavir pada

Resptor 6M2N

Hasil *docking score* yang diperoleh dari *docking* antara ligan senyawa monoterpen *Peppermint* dan senyawa pembanding (nelfinavir) dengan reseptor 6M2N dengan menggunakan *software Molegro Virtual Docker 6.0* ditunjukkan pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil *docking* senyawa monoterpen *Peppermint* dan senyawa pembanding (nelfinavir) dengan reseptor 6M2N

Senyawa	Parameter Score	Replikasi (kkal/mol)			Rerata \pm SD
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
 <i>Limonene</i>	MolDock Score	-74,020	-74,011	-73,988	-74,006 \pm 0,0165
	Rerank Score	-62,888	-62,824	-62,785	-62,832 \pm 0,0520
	H-Bond	0,000	0,000	0,000	0,000
 <i>Cineole</i>	MolDock Score	-54,647	-54,624	-54,654	-54,642 \pm 0,0157
	Rerank Score	-51,868	-51,670	-51,855	-51,798 \pm 0,1108
	H-Bond	0,000	0,000	0,000	0,000
 <i>Menthone</i>	MolDock Score	-74,435	-74,198	-74,429	-74,354 \pm 0,1351
	Rerank Score	-60,785	-61,324	-60,780	-60,963 \pm 0,3126
	H-Bond	-3,237	-2,920	-3,243	-3,133 \pm 0,1848
 <i>Menthofuran</i>	MolDock Score	-79,092	-78,828	-79,041	-78,987 \pm 0,1400
	Rerank Score	-58,045	-58,295	-54,989	-57,110 \pm 1,8408
	H-Bond	-3,022	-2,286	-3,145	-2,8177 \pm 0,4645
 <i>Isomenthone</i>	MolDock Score	-74,208	-74,429	-74,204	-74,280 \pm 0,1400
	Rerank Score	-61,167	-60,812	-61,331	-61,103 \pm 0,2653
	H-Bond	-2,962	-3,238	-2,932	-3,044 \pm 0,1687
 <i>Menthylacetate</i>	MolDock Score	-85,927	-85,826	-85,743	-85,832 \pm 0,0921
	Rerank Score	-73,240	-73,540	-73,234	-73,338 \pm 0,1750
	H-Bond	-4,044	-4,180	-4,187	-4,137 \pm 0,0806
 <i>Isopulegol</i>	MolDock Score	-73,580	-72,405	-73,590	-1,340 \pm 0,0955
	Rerank Score	-62,660	-61,827	-62,671	-62,386 \pm 0,4841
	H-Bond	-1,393	-1,230	-1,398	-1,340 \pm 0,0956
 <i>Menthol</i>	MolDock Score	-78,367	-78,353	-78,378	-78,366 \pm 0,0125
	Rerank Score	-64,995	-64,869	-64,998	-64,954 \pm 0,0736
	H-Bond	-2,908	-2,930	-2,916	-2,918 \pm 0,01114
 <i>Pulegone</i>	MolDock Score	-63,603	-63,593	-63,513	-63,570 \pm 0,0493
	Rerank Score	-57,890	-57,885	-56,417	-57,397 \pm 0,8490
	H-Bond	0,000	0,000	0,000	0,000

 <i>Carvone</i>	MolDock Score	-74,384	-74,323	-74,333	-74,347 \pm 0,0327
	Rerank Score	-64,454	-64,305	-64,254	-64,338 \pm 0,1039
	H-Bond	0,000	0,000	0,000	0,000
 <i>Nelfinavir</i>	MolDock Score	-154,243	-152,087	-159,767	-155,366 \pm 3,9612
	Rerank Score	-72,034	-66,480	-68,121	-68,878 \pm 2,853
	H-Bond	-5,520	-5,086	-5,412	-5,339 \pm 0,2259

Berdasarkan tabel 5.4 hasil *docking score* diatas, terdapat tiga parameter yaitu *moldock score*, *rerank score* dan H-bond. *Moldock score* hanya bertujuan untuk mengevaluasi geometri sudut ikatan hidrogen dimana posisi hidrogennya tetap (tidak dapat diputar) (Thomsen and Christensen, 2006). Oleh sebab itu, untuk mengukur nilai afinitas menggunakan nilai *rerank score*. *Rerank score* dapat digunakan untuk mengevaluasi kualitas *docking*, memprediksikan afinitasnya, serta dapat mencari konformasi ligan yang tepat dengan melihat nilai paling rendah (Guedes *et al.*, 2014).

Hasil analisis *docking* reseptor *Main protease* (Mpro) PDB ID 6M2N dengan senyawa monoterpen *Peppermint* dan senyawa pembanding (nelfinavir) sebagaimana tercantum pada tabel 5.4 didapatkan nilai rerata *Rerank Score* terendah sebesar -73,338 kkal/mol pada senyawa uji *menthylacetate*. Sedangkan nilai rerata *Rerank Score* tertinggi yaitu sebesar -51,798 kkal/mol pada senyawa uji *cineole*. Untuk menentukan apakah suatu senyawa diprediksi mempunyai aktivitas yang lebih baik, digunakan senyawa obat pembanding sebagai kontrol. Obat nelfinavir sebagai senyawa pembanding memiliki nilai rerata *Rerank Score* sebesar -68,878 kkal/mol. Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat dikatakan bahwa

senyawa *menthylacetate* memiliki aktifitas paling tinggi dibandingkan dengan natif ligan, obat pembanding dan senyawa uji yang lain. Senyawa uji yang memiliki nilai afinitas lebih rendah dibanding senyawa pembanding diprediksi memiliki kemampuan berikatan yang lebih stabil dibandingkan senyawa pembanding (Suhadi dkk., 2019).

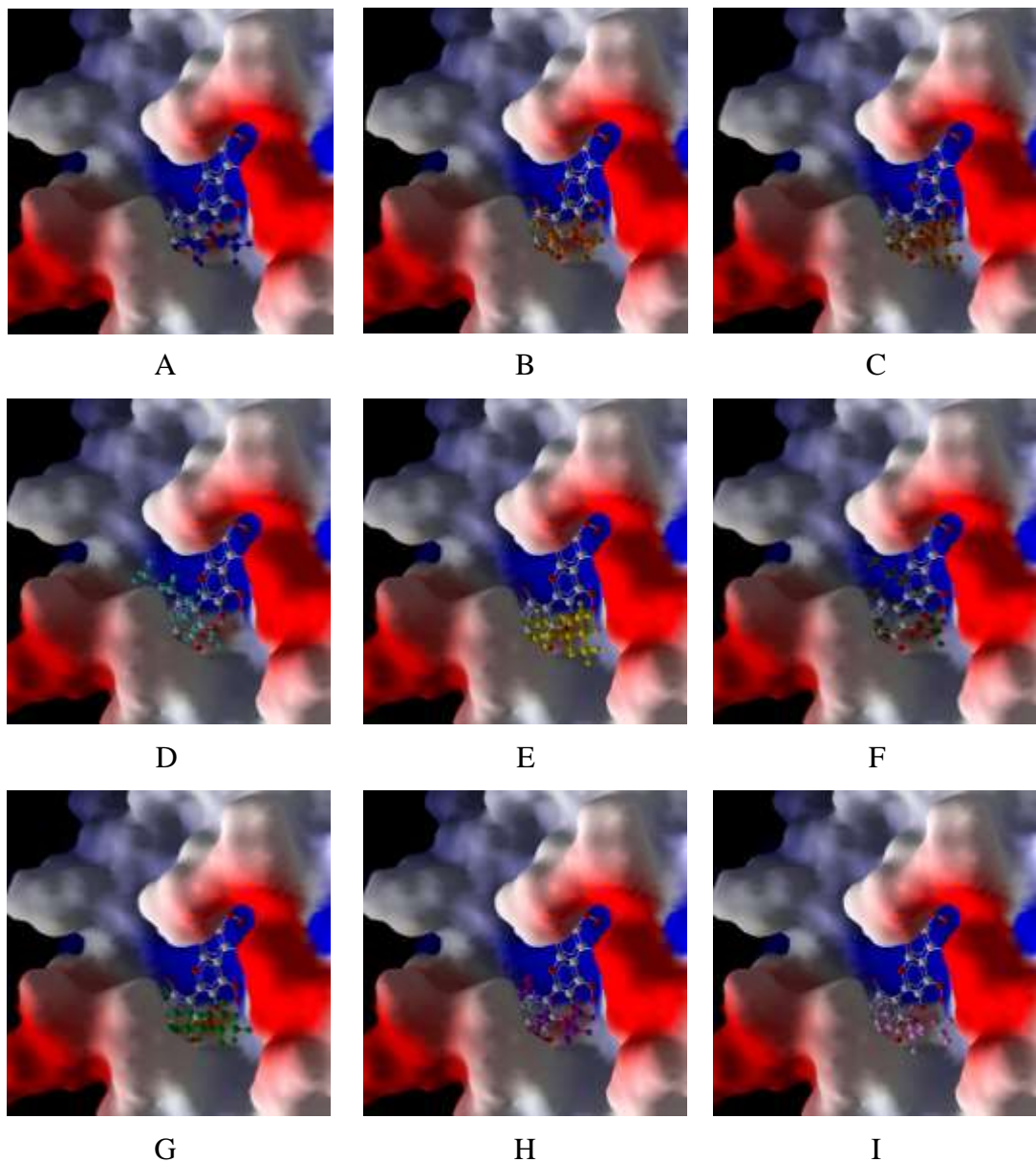
Prediksi aktivitas dari senyawa uji apabila telah berikatan dengan reseptor target dilihat dari nilai *Rerank Score* nya. Semakin rendah nilai RS, maka akan semakin stabil ikatan antara ligan dan reseptor. Apabila ikatan ligan dengan reseptor semakin stabil maka dapat dikatakan bahwa semakin besar aktivitas senyawa tersebut, sehingga dapat dikatakan memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa yang memiliki nilai RS yang tinggi (Zaidan *et al.*, senyawa uji yang paling berpotensi sebagai inhibitor reseptor *Main protease* (PDB ID : 6M2N) yang ditunjukkan dengan nilai *rerank score* paling negatif dibandingkan senyawa lainnya. Sehingga, senyawa *menthylacetate* bisa direkomendasikan untuk dilakukan uji lanjut.

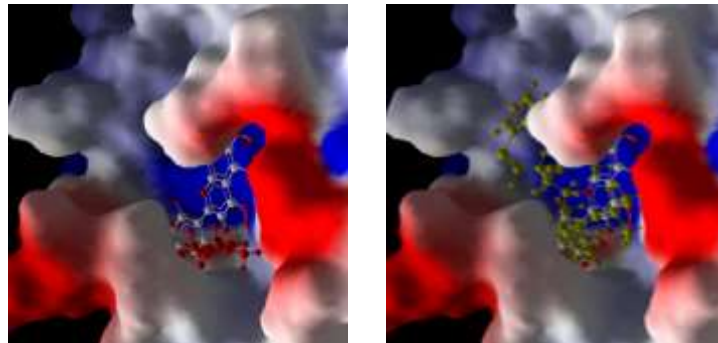
5.7.2. Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino

Asam amino merupakan senyawa organik yang dicirikan memiliki gugus karboksil, gugus amino, dan rantai samping yang terikat pada atom karbon pusat. Asam amino digunakan sebagai prekursor untuk molekul lain di dalam tubuh. Mengaitkan asam amino bersama-sama membentuk polipeptida bisa menjadi protein (Goudoever *et al.*, 2014).

Binding site protein adalah area pengikatan protein pada molekul-molekul serta ion-ion (ligan) yang dapat mempengaruhi konformasi atau fungsi dari protein.

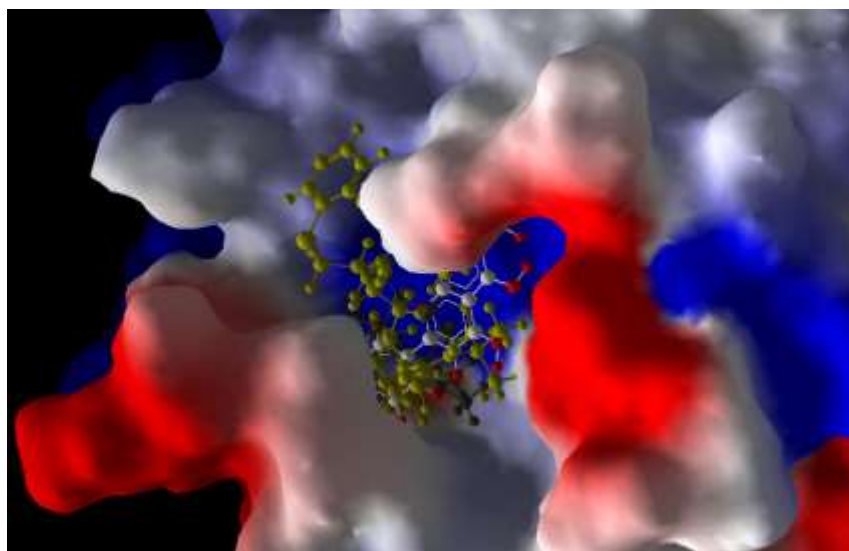
Residu-residu asam amino juga terlibat pada area *binding site*. Fungsi asam amino pada *binding site* yaitu pada pengikatan dengan ligan. Interaksi antara ligan dengan residu-residu asam amino makromolekul akan terbentuk interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen, ikatan van der Waals serta ikatan elektrostatis (Arwansyah dkk., 2014). Hasil interaksi antara ligan dengan asam amino pada reseptor target PDB ID 6M2N ditunjukkan pada gambar 5.6 dan 5.7 serta tabel 5.5 dan tabel 5.6.





Gambar 5.6 Bentuk tiga dimensi interaksi antara senyawa *Peppermint* dan senyawa pembanding (nelfinavir) dengan asam amino reseptor 6M2N (A) *limonene*, (B) *cineole*, (C) *menthone*, (D) *menthofuran*, (E) *isomenthone*, (F) *menthylacetate*, (G) *isopulegol*, (H) *menthol*, (I) *pulegone*, (J) *carvone* dan (K) nelfinavir

Keterangan Gambar 5.6 : *Limonene* (biru tua), *cineole* (jingga), *menthone* (coklat), *menthofuran* (biru muda), *isomenthone* (kuning), *menthylacetate* (abu-abu), *isopulegol* (hijau), *menthol* (ungu), *pulegone* (merah muda), *carvone* (merah), *nelfinavir* (olive).



Gambar 5.7 Pose ikatan senyawa terbaik (*menthylacetate*) dengan obat pembanding (nelfinavir)

Keterangan Gambar 5.7 : Abu-abu (*menthylacetate*), olive (nelfinavir)

Tabel 5.5 Asam amino yang terlibat dalam ikatan hidrogen pada enzim 6M2N

Senyawa	Asam Amino	Jarak (Å)	Gugus Ligan
Natif ligan	Leu 141	3,41	O No.18
	Gly 143	3,10	O No.18
	Gly 143	2,97	O No.17
	Glu 166	3,11	O No.9
<i>Limonene</i>	-	-	-
<i>Cineole</i>	-	-	-
<i>Menthone</i>	-	-	-
<i>Menthofuran</i>	Tyr 54	3,46	O No.8
	Cys 44	3,10	O No.8
<i>Isomenthone</i>	-	-	-
<i>Menthylacetate</i>	Tyr 54	2,64	O No.2
	Cys 44	2,97	O No.2
<i>Isopulegol</i>	Gln 189	3,30	O No.10
<i>Menthol</i>	Asp 187	3,01	O No.10
<i>Pulegone</i>	-	-	-
<i>Carvone</i>	-	-	-
Nelfinavir	Cys 145	3,13	O No.34
	Gly 143	3,12	O No.34
	Asn 142	2,60	O No.35
	His 41	2,69	O No.32

Tabel 5.6 Asam amino yang terlibat dalam ikatan sterik pada enzim 6M2N

Senyawa	Asam Amino	Jarak (Å)	Gugus Ligan
Natif ligan	Asn 142	3,27	O No.18
	Met 165	3,15	O No.9
<i>Limonene</i>	Asp 48	3,22	C No.3
<i>Cineole</i>	Met 49**	2,99	C No.6
	Met 49**	3,05	C No.8
<i>Menthone</i>	Asp 187	3,30	C No.5
<i>Menthofuran</i>	His 41	3,20	O No.7
	Cys 44	2,67	O No.7
	Asp 187	3,07	O No.1
<i>Isomenthone</i>	Asp 187	3,30	C No.5
<i>Menthylacetate</i>	Asp 187	3,20	O No.3
	Met 49**	2,56	C No.3
<i>Isopulegol</i>	Met 49**	2,29	O No.10
	Met 165*	3,15	O No.3
<i>Menthol</i>	Cys 44	3,13	C No.6
	Cys 44	2,96	C No.4
<i>Pulegone</i>	Met 186	2,76	O No.4
<i>Carvone</i>	Met 165*	3,22	C No.6
	Asp 48	3,21	C No.10
Nelfinavir	Thr 26	3,10	C No.22
	Thr 26	3,13	C No.21
	Thr 26	2,89	C No.30
	Thr 25	3,05	C No.31
	Asn 142	2,74	C No.19
	Met 49	2,78	N No.1

Keterangan :

- * : asam amino yang sama dengan natif ligan
- ** : asam amino yang sama dengan obat pembanding

Hasil interaksi asam amino antara ligan dengan reseptor menggunakan *software Molegro Virtual Docker* didapatkan tiga ikatan yaitu ikatan hidrogen, ikatan elektrostastik, dan ikatan sterik. Hasil interaksi antara senyawa monoterpen *Peppermint* dan obat pembanding nelfinavir dengan reseptor hanya terdapat ikatan hidrogen dan ikatan sterik. Gambar 5.8 menunjukkan hasil dua dimensi interaksi antara ligan dengan asam amino. Pada gambar tersebut, ikatan hidrogen ditandai dengan garis putus-putus berwarna biru. Sedangkan ikatan sterik ditandai dengan garis putus-putus berwarna merah.

Pada tabel 5.5 dan 5.6 menunjukkan hasil ikatan senyawa dengan asam amino, serta jarak ikatan dan gugus ligan. Ikatan hidrogen memiliki peran penting dalam mekanisme *docking* dan afinitas ikatan yang dihasilkan. Mayoritas ligan menunjukkan afinitas pengikatan yang rendah dan dengan demikian, dapat memilih jumlah target yang terkait dengan ikatan hidrogen, karena mempunyai energi yang lebih besar daripada ikatan elektrostatik dan ikatan sterik (Patil *et al.*, 2010). Ikatan hidrogen terjadi antara pelekatan atom H pada atom elektronegatif. Atom elektronegatif tersebut pada jarak ikatan 1,72-2,85 Å (Mustarichie *et al.*, 2014). Terdapat beberapa senyawa yang tidak membentuk ikatan hidrogen. Hal tersebut berhubungan dengan beberapa parameter sifat fisikokimia yaitu HBA dan HBD. Pada senyawa *limonene* dan *cineole* tidak memiliki HBA dan HBD, sedangkan pada senyawa *menthone*, *isomenthone*, *pulegone* dan *carvone* tidak memiliki HBD. HBA dan HBD berpengaruh terhadap ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan

dan reseptor (Pratama, 2020). Pada keenam senyawa tersebut jumlahnya tidak memenuhi sehingga tidak terbentuk ikatan hidrogen.

Interaksi residu asam amino menentukan apakah senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis yang sama dengan pembanding maupun natif ligan (Prasetiawati dkk., 2021). Menurut hasil pada tabel diatas, menunjukkan bahwa natif ligan (3WL_A) reseptor 6M2N berikatan dengan 6 residu asam amino yaitu Leu 141, Gly 143, Gly 143, Glu 166, Asn 142, dan Met 165. Pada penelitian Pintilie *et al* (2020), natif ligan 3WL_A membentuk residu Gly 143, Asn 142, dan Glu 166. Senyawa *limonene* memiliki residu asam amino Asp 48. Senyawa *cineole* memiliki residu asam amino Met 49 yang sama dengan residu pada obat pembanding. Senyawa *menthone* memiliki residu asam amino Asp 187. Senyawa *menthofuran* memiliki residu asam amino Tyr 54, His 41, Cys 44, dan Asp 187. Senyawa *isomenthone* memiliki residu asam amino Asp 187. Senyawa *menthylacetate* memiliki residu asam amino Met 49 dan Asp 187 yang mana memiliki kesamaan dengan residu asam amino obat pembanding yaitu Met 49. Senyawa *isopulegol* memiliki residu asam amino Gln 189, Met 49, dan Met 165 dimana memiliki kesamaan dengan obat pembanding yaitu residu Met 49 dan kesamaan dengan natif ligan yaitu residu Met 165. Senyawa *menthol* memiliki residu asam amino Asp 187 dan Cys 44. Senyawa *pulegone* memiliki residu asam amino Met 186. Senyawa *carvone* memiliki residu asam amino Asp 48 dan Met 165 yang memiliki kesamaan dengan residu natif ligan yaitu Met 165. Adanya kesamaan antara residu senyawa dengan natif ligan menandakan kemungkinan senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sama.

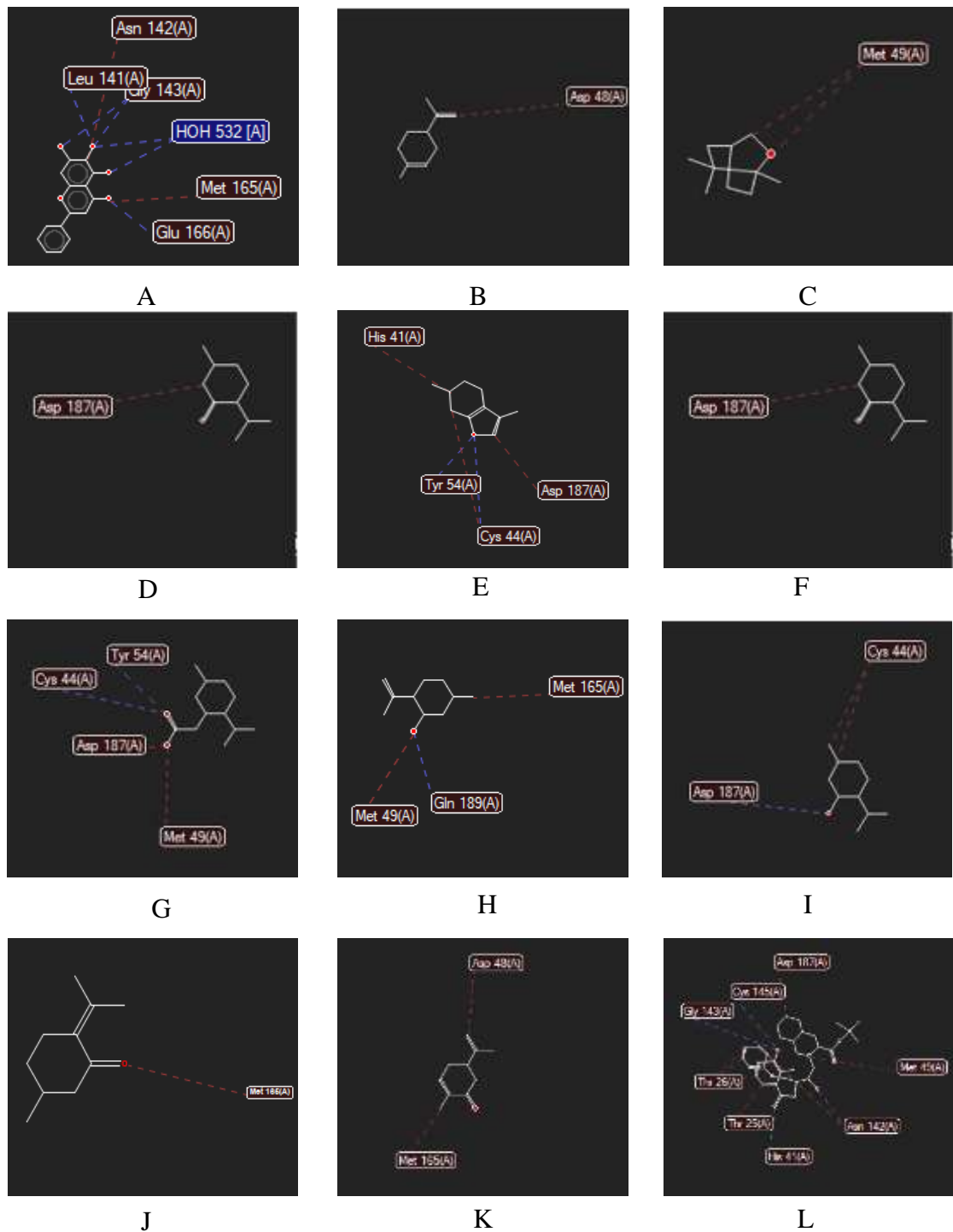
Menurut Shivanika *et al* (2020) reseptor *Non Structural Protease-5* atau *Main protease* memiliki 38 asam amino residu dari sisi aktif. Dari 38 asam amino residu tersebut, terdapat beberapa asam amino residu yang potensial untuk membentuk ikatan hidrogen dengan ligan, diantaranya yaitu Thr 26, His 41, Asn 142, Gly 143, Cys 145, His 163, Glu 166, Gln 189, Thr 190 dan Gln 192 (Gahlawat *et al.*, 2020). Pada natif ligan 6M2N berikatan dengan residu asam amino Asn 142, Gly 143, Glu 166.

Senyawa monoterpen *Peppermint* yang memiliki residu asam amino sama dengan ligan natif yaitu *isopulegol* dan *carvone*. Senyawa lain tidak memiliki residu asam amino seperti ligan natif, akan tetapi memiliki residu asam amino yang aktif pada *Main protease* seperti His 41, Cys 44, Tyr 54, Asp 48, Asp 187, dan Gln 189. Hal tersebut menandakan senyawa-senyawa tersebut dapat berikatan dengan reseptor dan memiliki ikatan yang stabil, serta diprediksi memiliki aktivitas yang sama dengan natif ligan. Ikatan hidrogen antara ligan uji dengan residu asam amino yang sama dengan natif ligan menunjukkan kemiripan jenis interaksi dalam hal ini menggambarkan kemiripan aktivitas (Nursamsiar dkk., 2020). Residu asam amino yang memiliki kemiripan dengan natif ligan menunjukkan bahwa ligan mampu menghambat aktifitas protein target dan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan natif ligan (Syahputra *et al.*, 2014).

Obat pembanding nelfinavir berikatan dengan residu asam amino Thr 25, Thr 26, His 41, Met 49, Asn 142, Gly 143, dan Cys 145. Terdapat 3 senyawa monoterpen *Peppermint* yang memiliki residu asam amino sama dengan obat pembanding nelfinavir yaitu *cineole*, *menthylacetate* dan *isopulegol*. Adanya

kesamaan antara residu senyawa dengan obat pembanding nelfinavir menandakan kemungkinan senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sama.

Berdasarkan tabel 5.5 dan 5.6, ikatan sterik natif ligan reseptor 6M2N berikatan dengan dua residu asam amino yaitu Asn 142 dan Met 165. Senyawa yang berikatan dengan asam amino dengan natif ligan yaitu *isopulegol* dan *carvone*. Ikatan sterik disebut juga dengan ikatan *Van der Waals*. Ikatan *Van der Waals* adalah kekuatan tarik menarik antar molekul maupun atom yang tidak bermuatan, serta lertak yang berdekatan dengan jarak sekitar 4-6 Å. Ikatan *Van der Waals* terlibat dalam interaksi cincin benzene dengan daerah bidang datar reseptor, serta dalam interaksi rantau hidrokarbon dengan makromolekul protein (reseptor) (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Menurut Muchtaridi *et al* (2018) ikatan sterik bisa memberikan tempat bagi asam amino yang aktif dengan ikatan hidrogen, sehingga dapat menstabilkan suatu ikatan.



Gambar 5.8 Hasil interaksi asam amino antara reseptor 6M2N dengan (A) natif ligan (B) *limonene*, (C) *cineole*, (D) *menthone*, (E) *menthofuran*, (F) *isomenthone*, (G) *menthylacetate*, (H) *isopulegol*, (I) *menthol*, (J) *pulegone*, (K) *carvone*, (L) *nelfinavir*

Keterangan gambar :

Garis biru : ikatan hidrogen
Garis merah : ikatan sterik

5.8. Prediksi Toksisitas

Studi *in silico* selanjutnya adalah untuk memprediksi toksisitas senyawa monoterpen *Peppermint* (*Limonene*, *cineole*, *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, *pulegone* dan *carvone*) dan senyawa pembanding (Nelfinavir) menggunakan parameter LD₅₀ dengan aplikasi *Protox II Online Tools* yang diakses secara bebas melalui situs https://tox-new.charite.de/protox_II/. Selain itu, klasifikasi kelas toksisitas didasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) yang terbagi dalam 6 kelas. Keenam kelas toksisitas yaitu kelas I (LD₅₀ ≤ 5 mg/kg) fatal jika tertelan, kelas II (5 < LD₅₀ ≤ 50 mg/kg) fatal jika tertelan, kelas III (50 < LD₅₀ ≤ 300 mg/kg) beracun jika tertelan, kelas IV (300 < LD₅₀ ≤ 2000 mg/kg) berbahaya jika tertelan, kelas V (2000 < LD₅₀ ≤ 5000 mg/kg) bisa berbahaya jika tertelan dan kelas VI (LD₅₀ > 5000 mg/kg) tidak beracun.

Sedangkan prediksi toksisitas senyawa menggunakan *Ames toxicity*, *Skin sensitization* dan *Hepatotoxicity* didapatkan dari *pkCSM Online Tools* yang diakses secara bebas melalui situs <https://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>. Prediksi toksisitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui toksisitas serta resiko-resiko yang timbul dari senyawa dan dapat berdampak ke manusia. Prediksi toksisitas ini penting untuk dilakukan karena aktivitas suatu senyawa saja tidak cukup untuk digunakan sebagai kandidat obat, akan tetapi juga dibutuhkan senyawa yang mempunyai toksisitas yang rendah. Hasil prediksi toksisitas senyawa monoterpen *Peppermint* dan senyawa pembanding (Nelfinavir) ditunjukkan pada tabel 5.7

Tabel 5.7 Prediksi toksisitas menggunakan *Protox Online Tool* dan *pkCSM Online Tool*

Senyawa	Toksistas				
	LD ₅₀ (mg/kg)*	Uji Mutagenik AMES**	Toksik terhadap hepar**	Sensitivitas kulit**	Kelas toksisitas*
<i>Limonene</i>	4400	Tidak	Tidak	Ya	5
<i>Cineole</i>	2480	Tidak	Tidak	Ya	5
<i>Menthone</i>	500	Tidak	Tidak	Ya	4
<i>Menthofuran</i>	590	Tidak	Ya	Ya	4
<i>Isomenthone</i>	500	Tidak	Tidak	Ya	4
<i>Menthylacetate</i>	3265	Tidak	Tidak	Ya	5
<i>Isopulegol</i>	5000	Tidak	Tidak	Ya	5
<i>Menthol</i>	940	Tidak	Tidak	Ya	4
<i>Pulegone</i>	470	Tidak	Tidak	Ya	4
<i>Carvone</i>	1640	Tidak	Tidak	Ya	4
Nelfinavir	600	Tidak	Ya	Tidak	4

Keterangan :* Menggunakan *Protox Online Tool*** Menggunakan *pkCSM Online Tool*

LD merupakan singkatan dari *Lethal Dose*. LD adalah jumlah bahan yang diberikan serta dapat menyebabkan kematian 50% kelompok hewan uji. LD₅₀ adalah salah satu cara untuk mengukur potensi keracunan jangka pendek (toksisitas akut) suatu bahan (Ahmad and Azmat, 2014). Berdasarkan tabel diatas, menunjukkan tujuh senyawa tergolong pada kelas 4 dan empat senyawa tergolong pada kelas 5. Senyawa yang tergolong pada kelas 4 yaitu senyawa *menthone*, *menthofuran*, *isomenthone*, *menthol*, *pulegone*, *carvone* dan *nelfinavir*. Sedangkan senyawa yang tergolong pada kelas 5 yaitu senyawa *limonene*, *cineole*, *menthylacetate* dan *isopulegol*.

Menurut *Globally Harmonized System* (GHS) kelas toksistas berdasarkan nilai LD₅₀ dibagi menjadi 6 kelas. Kelas 1 sampai 3 memiliki toksistas yang tinggi, sehingga cukup berbahaya. Sedangkan kelas 4 sampai 6 memiliki toksistas yang rendah, sehingga sedikit berbahaya. Pada tabel hasil prediksi toksistas diatas,

senyawa monoterpen *Peppermint* dan senyawa pembanding (nelfinavir) masuk ke dalam kelas 4 dan 5. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki toksisitas yang rendah sehingga sedikit berbahaya. Semakin kecil nilai LD₅₀ maka semakin toksik senyawa tersebut dan sebaliknya, semakin besar nilai LD₅₀ maka semakin rendah toksisitasnya (Supandi *et al.*, 2018).

Parameter selanjutnya yakni *Ames Toxicity* atau uji mutagenik merupakan metode yang digunakan untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif ditandai dengan senyawa tersebut bersifat mutagenik dan oleh sebab itu dapat bertanggung jawab sebagai karsinogen (Kesuma dkk., 2018). Berdasarkan tabel diatas, semua senyawa yang diuji tidak toksik terhadap bakteri.

Parameter ketiga dari prediksi toksisitas yaitu uji *hepatotoxicity* yang merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui bahwa senyawa yang digunakan tidak toksik terhadap hepar. Berdasarkan tabel diatas, terdapat 2 senyawa yang toksik terhadap hepar yaitu *menthofuran* dan senyawa pembanding nelfinavir. Sedangkan, senyawa lainnya diprediksi tidak toksik terhadap hepar. Metabolit utama yang bertanggungjawab atas efek hepatotoksik senyawa *menthofuran* adalah γ -ketoenal dan/atau epoksida yang dibentuk oleh oksidasi cincin furan (Khojasteh *et al.*, 2010). Hasil prediksi toksisitas nelfinavir yaitu toksik terhadap hepar, hal tersebut sesuai dengan jurnal Januar dan Sjawitri (2004) bahwa nelfinavir memiliki efek toksik pada hepar.

Parameter keempat dari prediksi toksisitas yaitu uji *skin sensitization* atau sensitivitas kulit yang merupakan respon hipersensitivitas yang dimediasi oleh sel

T, yang terjadi jika individu yang rentan terkena sejumlah alergen kontak yang cukup untuk menginduksi aktivasi, proliferasi dan perluasan klonal sel T yang responsif terhadap alergen. Uji *skin sensitization* merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui senyawa yang digunakan apakah dapat mengiritasi kulit (Gilmour *et al.*, 2019). Berdasarkan tabel diatas, hanya senyawa pembanding (nelfinavir) yang tidak mengiritasi kulit. Hasil prediksi sensitivitas kulit menunjukkan bahwa senyawa monoterpen *Peppermint* dapat mengiritasi kulit. Oleh karena itu, penggunaan minyak *Peppermint* (yang mengandung senyawa monoterpen) tidak disarankan digunakan pada area wajah dan kulit, khususnya di bagian hidung (Kuhn and Winston, 2008). Minyak *Peppermint* dapat mengiritasi dalam kadar >4% dalam suatu formulasi, namun pada orang yang memiliki sensitif, kadar 0,1% pun sudah mampu mengiritasi (Balchin, 2006).

5.9. Analisis Data Statistik

Analisis data hasil *rerank score* secara statistik. Analisis data statistika dilakukan menggunakan aplikasi *SPSS Statistics 26.0 for Windows*. Uji yang digunakan yaitu uji *Kruskall-Wallis*. Uji *Kruskall-Wallis* adalah salah satu uji statistik non parametrik yang dapat digunakan untuk menguji apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel independen dengan variabel dependennya. Karena untuk melihat perbedaan yang signifikan antar kelompok, uji ini digunakan untuk melihat perbandingan lebih dari 2 kelompok populasi dengan data berbentuk ranking (Jamco dan Abdul, 2020).

5.9.1. Uji Normalitas

Uji normalitas digunakan untuk menguji suatu model regresi, suatu variabel independen dan variabel dependen maupun keduanya mempunyai distribusi normal maupun tidak normal. Apabila tidak terdistribusi dengan normal, maka hasil uji statistik akan mengalami penurunan. Pengujian normalitas yang sering digunakan untuk melakukan analisis data yaitu *Shapiro-Wilk* dan *Kolmogorov Smirnov*. Pada penelitian ini menggunakan *Shapiro-Wilk*. *Shapiro-Wilk* dipilih karena hasil penelitian kurang dari 50 sampel (Santoso, 2014).

Menurut Oktaviani dan Notobroto (2014) suatu data dapat dinyatakan normal apabila nilai signifikansi (Sig.) $>0,05$. Suatu data dapat dinyatakan tidak terdistribusi normal apabila nilai signifikansi (Sig.) $<0,05$. Hasil analisis data *rerank score* pada reseptor 6M2N dengan uji normalitas dapat dilihat pada tabel 5.8.

Tabel 5.8. Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk rerank score* senyawa monoterpen *Peppermint* pada reseptor 6M2N

Senyawa	Sig.
<i>Limonene</i>	,734
<i>Cineole</i>	,112
<i>Menthone</i>	,015
<i>Menthofuran</i>	,130
<i>Isomenthone</i>	,600
<i>Menthylacetate</i>	,033
<i>Isopulegol</i>	,022
<i>Menthol</i>	,039
<i>Pulegone</i>	,006
<i>Carvone</i>	,473
Nelfinavir	,786

Hasil pada tabel 5.8 menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal. Hal tersebut dikarenakan pada senyawa *menthone*, *menthylacetate*, *isopulegol*, *menthol*, dan *pulegone* tidak memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05. Selanjutnya

dilakukan analisis lebih lanjut menggunakan uji *Kruskall-Wallis*. Pada penelitian ini tidak dilanjutkan menggunakan uji ANOVA dikarenakan uji ANOVA mengasumsikan data harus berdistribusi normal dan mempunyai varian yang homogen. Apabila salah satu dari asumsi tersebut tidak terpenuhi maka dilanjutkan uji statistika nonparametrik, salah satu pengujian yang bisa dilakukan adalah uji *Kruskall-Wallis* (Yanti, 2010).

5.9.2. Uji Kruskal-Wallis

Uji *Kruskall-Wallis* untuk menguji perbedaan dua sampel independen dengan data berskala ordinal. Uji *Kruskall-Wallis* ini digunakan untuk menguji perbedaan antara dua sampel bebas. Hasil dari uji ini menyatakan apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 maka data dapat dinyatakan tidak memiliki perbedaan rata-rata yang bermakna. Begitupun sebaliknya, apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 maka dapat dinyatakan memiliki perbedaan rata-rata yang bermakna (Purnomo dan Syamsul, 2017). Hasil dari uji *Kruskall-Wallis rerank score* senyawa monoterpen *Peppermint* pada reseptor 6M2N dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9. Hasil uji *Kruskall-Wallis rerank score* senyawa monoterpen *Peppermint* pada reseptor 6M2N

Reseptor 6M2N	Sig.
	,005

Hasil dari tabel 5.9 menunjukkan bahwa signifikansi menunjukkan kurang dari 0,05. Hal tersebut menandakan bahwa terdapat perbedaan rata-rata *rerank score* yang bermakna dari masing-masing senyawa. Karena hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan rata-rata *rerank score* yang bermakna, maka perlu dilakukan uji *post hoc*. Uji *post hoc* bertujuan untuk melihat senyawa-senyawa yang memiliki perbedaan *rerank score*.

5.9.3. Uji Mann-Whitney

Alat untuk melakukan analisis *post hoc* untuk uji *Kruskall-Wallis* adalah dengan uji *Mann-Whitney* (Desiyanto dan Sitti, 2013). Uji *Mann-Whitney* adalah salah satu bentuk pengujian dalam analisis statistika non parametrik, di mana pengujian digunakan untuk menguji kesamaan distribusi dua populasi yang saling bebas dengan asumsi distribusi dari kedua populasi adalah kontinu dan skala pengukuran dari data minimal ordinal (Yanti, 2007). Uji *Mann-Whitney* pada penelitian ini untuk mengetahui *rerank score* senyawa mana yang memiliki perbedaan bermakna. Adapun kriteria uji *Mann-Whitney* adalah terdapat perbedaan signifikan jika $\text{sig.} < 0,05$ dan tidak terdapat perbedaan signifikan jika $\text{sig.} \geq 0,05$ (Sanusi dkk., 2020). Hasil dari uji *Mann-Whitney rerank score* senyawa monoterpen *Peppermint* pada reseptor 6M2N dapat dilihat pada tabel 5.10.

Tabel 5.10. Hasil uji *Mann-Whitney rerank score* senyawa monoterpen *Peppermint* pada reseptor 6M2N

	<i>Limonene</i>	<i>Cineole</i>	<i>Menthone</i>	<i>Menthofuran</i>	<i>Isomenthone</i>	<i>Menthylacetate</i>	<i>Isopulegol</i>	<i>Menthol</i>	<i>Pulegone</i>	<i>Carvone</i>
<i>Limonene</i>										
<i>Cineole</i>	.023*									
<i>Menthone</i>	.291	.221								
<i>Menthofuran</i>	.100	.527	.554							
<i>Isomenthone</i>	.398	.151	.833	.422						
<i>Menthylacetate</i>	.205	.000*	.020*	.004*	.035*					
<i>Isopulegol</i>	.704	.057	.499	.205	.642	.100				
<i>Menthol</i>	.447	.002*	.069	.016*	.109	.612	.254			
<i>Pulegone</i>	.076	.612	.473	.899	.353	.002*	.164	.011*		
<i>Carvone</i>	.704	.008*	.151	.043*	.221	.375	.447	.704	.031*	
<i>Nelfinavir</i>	1.000	.023*	.291	.100	.398	.205	.704	.447	.076	.704

Keterangan tabel

* : Berbeda signifikan

Hasil dari uji *Mann-Whitney* senyawa monoterpen *Peppermint* dengan obat pembanding (nelfinavir) terdapat 12 senyawa yang memiliki signifikansi $<0,05$. Senyawa tersebut yaitu *cineole-limonene*, *cineole-nelfinavir*, *cineole-carvone*, *cineole-menthol*, *cineole-menthylacetate*, *pulegone-carvone*, *pulegone-menthol*, *pulegone-menthylacetate*, *menthofuran-carvone*, *menthofuran-menthol*, *menthofuran-menthylacetate*, *menthone-menthylacetate*, *isomenthone-menthylacetate*. Dari nilai signifikansi keduabelas senyawa tersebut menunjukkan bahwa 12 senyawa di atas memiliki perbedaan yang signifikan.

BAB VI

PENUTUP

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan yaitu :

1. Senyawa monoterpen *Peppermint* berinteraksi dengan reseptor *Main protease* SARS-CoV-2 (6M2N) pada *cavity* 4, dengan ini diprediksi memiliki potensi menghambat reseptor *Main protease* SARS-CoV-2. Diketahui bahwa senyawa dengan nilai *rerank score* terbaik adalah *menthylacetate*.
2. Empat senyawa monoterpen *Peppermint* menurut *Globally Harmonized System* (GHS) tergolong pada kelas 5 ($2000 < LD50 \leq 5000$ mg / kg) yaitu senyawa *limonene*, *cineole*, *menthylacetate* dan *isopulegol*. Sedangkan senyawa *menthone*, *menthofuran*, *isoementhone*, *menthol*, *pulegone*, *carvone* dan obat pembanding (nelfinavir) tergolong dalam kelas 4 ($300 < LD50 \leq 2000$ mg/kg).

6.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti memberikan saran kepada peneliti selanjutnya yaitu :

1. Mencoba melakukan *docking* antara senyawa monoterpen *Peppermint* dengan reseptor COVID-19 yang berbeda aktivitasnya, agar informasi

terkait antivirus golongan monoterpen pada tanaman *Peppermint* dapat bertambah.

2. Penelitian secara *in silico* merupakan suatu penelitian yang bersifat prediksi. Sehingga, perlu dilakukan pengujian secara *in vitro* dan *in vivo* dari senyawa monoterpen *Peppermint* untuk mengetahui adanya potensi antivirus.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, S and Ranjana, M. 2016. An Overview of Molecular Docking. *JSMChemistry*. Vol 4. No 2.
- Ahmad, R., Ahmad, N., Naqvi, A.A., Shehzad, A., and Al Ghamdi. 2016. Role of Traditional Islamic and Arabic Plants in Cancer Therapy. *Journal Tradist Complement Med*. 1-10.
- Ahmed, M and Azmat, A. 2014. Acute Toxicity (Lethal Dose 50 Calculation) and Histopathological Effects of Methanolic Extract of *Berberis vulgaris* in Mice. *World J. Pharmacol. Res*, Vol. 3 : 1439-1448.
- Anderson, K.G., Rambaut, A., Lipkin, W.I., Holmes, E.C and Garry, R.F. 2020. The Proximal Origin of SARS-CoV-2o. *Nat.Med*. Vol 26 : 450-452.
- Anwari, F., Melawati, O., Umi, F. 2019. Efektifitas Kombinasi Mint (Peppermint Oil) dan Cairan Nebulizer pada Penganganan Batu Asma Bronchiale. *Jurnal SainHelth*. Vol. 3 No. 1
- Arora R., Chawla R., Marwah R., Arora P., and Sharma R. 2010. Potential of Complementary and Alternative Medicine in Preventive Management of Novel H1N1 Flu (Swine Flu) Pandemic: Thwarting potential disasters in the bud. *J Evid Based Complementary Altern Med* 10: 1-16.
- Arwansyah, A., Ambarsari, L., dan Sumaryada, T. I. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*. Vol. 1. No. 1 : 11-19.
- Balakrishnan, A. 2015. Therapeutic Uses of *Peppermint* – A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 7 No. 7.
- Balchin, L.M. 2006. *Aromatherapy Science : A Guide for Healthcare Professionals*. London : Pharmaceutical Press.
- Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. 2016. The Rule of 5 and drugability. *Adv Drug Deliv Rev*. 1;101:89-98.
- Bhatt, D. 2012. Molecular Docking of Vascular Endothelial Growth Factor with Phytochemicals for Anti-Angiogenesis. *Int.J.Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol 3 No 4
- Bin Ishaq Alu Syaikh, Dr.Abdullah Muhammad bin Abdurrahman. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir*. Jilid V. Bogor : Pustaka Imam Asy Syafi'i

- Brand, Y.M., Roalinares, V.C., Betancur, Galvis, L.A., Duran Garcia, D.C, and Stashenko, E. 2016. Antiviral Activity of Colombian labiatae and Verbenaceae family Essential Oils and Monoterpenes on Human Herpes Viruses. *J Essent Oil Res* 28 : 130-137
- Borkotoky, S and Manidipa Banerjee. 2020. A computational prediction of SARS-CoV-2 structural protein inhibitors from *Azadirachta indica* (Neem). *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. ISSN: 0739-1102.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman*. Jakarta Pusat : BPOM RI.
- Chan, J.F *et al.* 2020. Genomic Chracterisation and Epidemiology of 2019 Novel Coronavirus : Implications for Virus Origins and Receptor Binding. *Lancet*. Vol 395 :565-574.
- Chen, Y., Qianyun, L., Deyin, G. 2020. Emerging Coronaviruses : Genomer Structure, Replication and Pathogenesis. *Medical Virology*. 2 : 418-423.
- CLCbio.2013. *Molegro Virtual Docker User Manual, MVD 2013 6.0 for Windows, Linux, and Mac OS X*. A CLC Bio Company.
- Cosentino, M *et al.* 2009. Antioxidant Properties and *in vitro* Immunomodulatory Effects of *Peppermint* (*Mentha x piperita* L.) Essential Oils in Human Leukocytes. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 1 No. 3.
- Cui, J., Li, F., and Shi, Z.L. 2019. Origin and Evolution of Pathogenic Coronaviruses. *Nat.Rev.Microbial*. Vol 1 : 181-192.
- Daina, A., Olivier, M and Vincent, Z. 2017. SwissADME : A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Druglikeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Scientific Reports*. Vol. 7.
- Deng, S.Q and Peng, H.J. 2020. Characteristics of and Publis Health Responses to the Coronavirus Disease 2019 Outbreak in China. *J.Clin.Med*. Issue 9
- Desai, A., Chirag, D., Hemshree, D., Anjuman, M., Jital, D., 2020. Possible Role of Medicinal Plants in Covid 19. *International Journal of Scientific Development and Research*. Volume 5 Issue 4.
- Deschamps, J. D., Gautschi, J. T., Whitman, S., Johnson, T. A., Gassner, N. C., Crews, P., and Holman, T. R. 2007. Discovery of Platelet-Type 12-Human Lipoygenase Selective Inhibitors by High-Throughput Screening of

- Structurally Diverse Libraries. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. Vol. 15, No. 22 : 6900-6908.
- Deslandes, A *et al.* 2020. SARS-CoV-2 was Already Spreading in France in Late December 2019. *Int.J.AntimicrobAgents*. Vol 55 .
- Desiyanto, F.A dan Sitti, N.D. 2013. Efektivitas Mencuci Tangan Menggunakan Cairan Pembersih Tangan Antiseptik (*Hand sanitizer*) Terhadap Jumlah Angka Kuman. *Kesmas*. Vol. 7 No. 2 : 55-112.
- Donatus, I.A. 2005. *Toksikologi Dasar. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi*. Yogyakarta : Fakultas Farmasi UGM.
- [EET] Eurosurveillance Editorial Team. 2020. Note from the Editor : WHO Declares Novel Coronavirus (2019-nCoV) Sixth Public Health Emergency of International Concern. *Euro Surveill*. Vol 25.
- El-Din, H.M.A *et al.* 2016. Molecular Docking based Screening of Compound against V40 from Ebola Virus. *Bioinformation*. Vol 12. No 3 : 192-196.
- Ertl, P., Rohde, B., and Selzer, P. 2000. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to The Prediction of Drug Transport Properties. *Journal of medicinal chemistry*. Vol. 43, No. 20 : 3714-3717.
- Fehr, A.R and Perlman, S. 2015. Coronaviruses : An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Method in Molecular Biology*.
- Ferreira, G.B and Walter, F.D. 2019. *Molegro Virtual Docker for Docking*. Brazil : Pontificia Universidade catolica do Rio Grande do Sul.
- Gahlawat, A., Navneet, K., Rajender, K., Hardeep, S., Inder, P., Saranjit, S., Anders, S., and Prabha, G. 2020. Structure-Based Virtual Screening to Discover Potential Leas Molecules for the SARS-CoV-2 Main Protease. *Journal of Chemical Information and Modeling*. Vol. 60.
- Geuenich, S., Goffinet, C., Venzke, S., Nolkemper, S., and Baumann, I. 2008. Aqueous Extracts from *Peppermint*, Sage, and Lemon Balm Leaves Display Potent Anti-HIV-1 Activity by Increasing the Virion Density. *Retrovirology* 5 : 1-16
- Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., & Ziebuhr, J. (2020). The Species Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus: Classifying 2019-nCoV and

- Naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>.
- Goudoever, J. B., Vlaardingerbroek, H., van den Akker, C. H., de Groof, F., dan van der Schoor, S. R. 2014. Amino Acids and Proteins. *Nutritional Care of Preterm Infants*, Vol. 110 : 49-63. Guedes, I. A., de Magalhães, C. S., dan Dardenne, L. E. 2014. Receptor–Ligand Molecular Docking. *Biophysical Reviews*. Vol. 6. No. 1 : 75-87.
- Gralinski, L.E and Menchery, V.D. 2020. Return of the Coronavirus : 2019-nCoV. *Viruses*. Vol 12.
- Guedes, I. A., de Magalhães, C. S., dan Dardenne, L. E. 2014. Receptor–Ligand Molecular Docking. *Biophysical Reviews*. Vol. 6. No. 1 : 75-87.
- Han, W., Lin, Q., Jin, S., and You, L. Coronavirus 2019-nCoV : A Brief Perspective from the Front Line. *J.Infect*. Vol 80 : 373-377.
- Hariz, M.F. 2019. Uji Sitotoksik, Toksisitas dan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Isoliquiritigenin dan Oxyresveratrol Terhadap Reseptor B-cell lymphoma 2 (4AQ3) dan *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2* (2RL5) Sebagai Terapi Kanker Serviks Secara *In Silico* [Skripsi. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Hawryl, M.A., Niemiec, M., Stomka, K., Hajnos, M.W., and Szymczak, G. 2016. Micro-2D-TLC Separation of Phenolics in Some Species of Mint and Their Fingerprints on Diol Bonded Polar Stationary Phase. *Acta Chromatographica*. 28(1).
- Hestina, N.A. 2020. Wabah Penyakit Menular (COVID-19) dan Perumpamaan dalam Al-Quran. *Jurnal Studi Al-Qur'an dan Keislaman*. Vol. 4 No. 2.
- Hoffmann, M *et al.* 2020. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. Vol.181 No.2.
- Hu, B., Hua, G., Peng, Z., and Zheng, L.S. 2020. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Microbiology*.
- Hui, D *et al.* 2020. The Continuing 2019-nCoV Epidemic Threat of Novel Coronaviruses to Global Health-The Latest 2019 Novel Coronavirus Outbreak in Wuhan, China. *Intl.J.Infect.Dis*. Vol 91 : 264-266
- Jamco, J.C.S dan Abdul, M.B. 2020. Analisis *Kruskall-Wallis* untuk Mengetahui Konsentrasi Belajar Mahasiswa Berdasarkan Bidang Minat Program Studi

- Statistika FMIPA Unpatti. *Jurnal Riset Matematika, Statistika dan Terapannya*. Vol. 1 No. 1. 39-44.
- Januar, B dan Sjawitri, P.S. 2004. Infeksi HIV pada Bayi. *Sari Pediatri*. Vol. 6 No. 1 : 23-31
- Jiang, S., Du, L., Shi,Z. 2020. An Emerging Coronavirus Causing Pneumonia Outbreak in Wuhan, China : Calling for Developing Therapeutic and Prophylactic Strategies. *Emerg.Microbes Infect.* Vol 9 : 275-277.
- Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., and Duan, Y. 2020. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and Discovery of Its Inhibitors. *Nature*. 1-5.
- Katno, S dan Pramono. 2002. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Yogyakarta : FF UGM.
- Kesuma, D., Purwanto, B.T and Hardjono, S. 2018. Uji *In Silico* Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan *N*-(Benzoik)-*N'*-Feniltiourea sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. Vol 1 : 1-11.
- Khaerunnisa, S., Kurniawan, H., Awaluddin, R., Suhartati., dan Soetjipto. Potential Inhibitor of COVID-18 Main Protease (Mpro) from Several Medicinal Plant Compounds by Molecular Docking Study. *Researchgate*.
- Khalil, A.F., Elkatry, H.O., and El Mehairy, H.F. 2015. Protective effect of *Peppermint* and Parsley Leaves Oils against Hepatotoxicity on Experimental Rats Ann. *Agric Sci* 60 : 353-359.
- Khojasteh, S.C., Shimako, O and Sidney, D. 2010. Metabolism and Toxicity of Menthofuran in Rat Liver Slices and in Rats. *American Chemical Society*. Vol. 23 No. 11.
- Korsman, S.N and Preiser, W. 2012. *Virology In Human Coronaviruses*. New York : Chill Livingstone.
- Kufareva, I., & Abagyan, R. 2012. Methods of protein structure comparison. *Methods Mol Biol*. 857 : 231-257.
- Kuhn, A.M and Windston, D. 2008. *Herbal Therapy & Supplements : A Scientific and Traditional Approacg, Second Edition*. Philadelphia : Wolters Kluwer Health.
- Kumar, B. P., Soni, M., Bhikhalal, U. B., Kakkot, I. R., Jagadeesh, M., Bommu, P., and Nanjan, M. J. 2009. Analysis of physicochemical properties for drugs from nature. *Medicinal chemistry research*. Vol. 19, No. 8 : 984-992.

- Kumar, K.J., Gokila, V., Chung, S.W., Chia, C.C., Yu Chien, C., Li, P.L., Ching, H.H., Chien, S.L., and Sheng, Y.W. 2020. Geranium and Lemon Essential Oils and Their Active Compounds Downregulate Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE 2), a SARS-Co-V-2 Spike Receptor-Binding Domain, in Epithelial Cells. *Plants*. Vol 9
- Kunnumakkara, A.B., Chung J.G., Koca C, Dey S. 2009. Mint and its constituents. In Molecular targets and therapeutic uses of spices: *Modern uses for ancient Medicine* 9: 373-401.
- Kusmiyati, M. 2017. *Senyawa Kimia Sebagai Dasar Kehidupan*. Jakarta : Kemkes.
- Lestari, Tresna. 2015. 1, 3-Dibenzoilthiourea Sebagai Ribonukleotida Reduktase Inhibitor. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 7. No. 3 : 163-169.
- Lipinski, C.A., Lombardo., Dominy, B.W and Feeney, F.J. 1997. Experimental Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Volume 23 : 3-5.
- Lipinski, C.A. 2016. Rule of Five in 2015 and Beyond : Target and Ligand Structural Limitations, Ligand Chemistry Structure and Drug Discovery Project Decisions. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol 8.
- Liu, X., Zhang, B., Jin, Z., Yang, H and Rao, Z. 2020. The Crystal Structure of COVID-19 *Main protease* in Complex with an Inhibitor N3. *Biological Macromolecular Structures Enabling Breakthrough in Research and Education*.
- Li, Y., Zhou, Y.C., Yang, M.H., and Ou Yang. 2012. Natural Occurrence of Citrinin in Widely Consumed Traditional Chinese Food Red Yeast Rice, Medicinal Plants and Their Related Product. *Food Chem* 132 : 1040-1045
- Li, Q *et al.* 2020. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China of Novel Coronavirus Infected Pneumonia. *N.Engl.J.Med.* Vol 382 : 1199-1207.
- Loolaie, M., Moasefi, N., Rasouli, H., and Adibi, H. 2017. *Peppermint* and Its Functionality : A Review. *iMedPub Journals*. Vol 8 No 4.
- Mahendran, G and Laiq-Ur Rahman. 2020. Ethnomedicinal, Phytochemical and Pharmacological Updates on *Peppermint (Mentha x piperita L.)* – A Review. *Phytotherapy Research*. Vol 1.
- Martinez, F.D.P., Arciniega, M and Framco, J.L.M. 2018. Molecular Docking : Current Advances and Challenges. *Publication anticipada*. Vol 21. Supl 1.

- McKay, D.L and Blumberg, J.B. 2006. A Review of the Bioactivity and Potential Health Benefits of *Peppermint* Tea (*Mentha piperita* L.). *Phytother Res* 20 : 619-633
- Meng, X.Y., Hong, X.Z., Mihaly, M and Meng, C. 2011. Molecular Docking : A Powerful for Structure Based Discovery. *Current computer-Aided Drug Design*. Vol 7 : 146-157.
- Moradi, M.T., Rafieian, K.M., and Karimi, A. 2016. A Review Study on the Effect of Iranian Herbal Medicines against in vitro Replication of Herpes Simplex Virus. *Avicenna J Phytomed* 20 : 1-11.
- Muchtaridi, M., Dermawan, D., & Yusuf, M. (2018). Molecular Docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling, and ADME Prediction of Alpha Mangostin and its Derivatives Against Estrogen Receptor Alpha. *Journal of Young Pharmacists*. Vol. 10, No. 3.
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. 2000. *Harper's Biochemistry* 25th ed. USA : Appleton & Lange.
- Murguetio, M.S., Bermudez, M., Mortier, J and Wolber, G. 2012. In Silico Virtual Screening Approaches for Antiviral Drug Discovery. *Drug Discov Today Technol*. Vol 9.
- Musarrat, F *et al.* 2020. The Anti-HIV Drug Nelfinavir Mesylate (Viracept) is a Potent Inhibitor of Cell Fusion Caused by the SARS-CoV-2 Spike (S) Glycoprotein Warranting Further Evaluation as an Antiviral Against COVID-1 Infections. *PubMed*. 92 (10).
- Mustarichie, R., Sohadi, W., Moelyono, M., Sandra, M dan Febrina, A.S. 2014. Docking, Absorption, Distribution, Metabolism and Toxicity Prediction of Anticancer Compounds Found in Plants. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 3 Issue. 10.
- Muttaqin., Fauzan Z., Halim, I., Hubbi, N.M. 2019. Studi *Molecular Docking*, *Molecular Dynamic*, dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A pada Kanker Leukimia. *Pharmacoscript*. Vol 2. No.1.
- Narko, T., Permana, B., Prasetiawati, R., Soni, D., dan Khairiyah, F. 2019. Studi Penambatan Molekul Senyawa dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr.) Sebagai Obat Antikanker Serviks. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. Vol. 8, No. 2 : 1-14.

- Nursamsiar, Maya M. Mangande, Akbar Awaluddin, Syamsu Nur dan Aiyi Asnawi. 2020. In Silico Study of Aglycon Curculigoside A and Its Derivates as α -Amilase Inhibitors. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Tevhnology*. 7(1).
- Ohashi, H *et al.* 2020. Multidrug Treatment with Nelfinavir and Cepharantine Against COVID-19. *bioRxiv*.
- O'Shea, R and Heins, E. 2007. Physicochemical Properties of Antibacterial Compounds : Implications for Drug Recovery. *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol 51 (10).
- Patil, R., Das, S., Stanley, A., Yadav, L., Sudhakar, A., and Varma, A. K. 2010. Optimized Hydrophobic Interactions and Hydrogen Bonding at the Target-Ligand Interface Leads the Pathways of Drug-Designing. *PloS One*. Vol. 5. No. 8 : 12029.
- Patne, T., Jayashri, M., and Pranali, T. 2020. Inhalation of Essential Oils : Could be Adjuvant Therapeutic Strategy for COVID-19. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol 11 (9).
- Petsko, A.G and Dagmar, R. 2004. *Protein Structure and Function*. London : New Sciences Press ltd.
- Phan, L.T., Nguyen, T.V., Luong, Q.C., Nguyen, H.T., Le, H.Q., Nguyen, T.T., Cao, T.M., and Pham, Q.D. 2020. Importation and Human to Human Transmission of a Novel Coronavirus in Vietnam. *New England Journal of Medicine*. 872-864.
- Pintilie, L., Constain, T and Ranjan, K.M. 2020. Molecular Docking Studies on Synthetic Therapeutic Agents for COVID-19. *Chemistry proceedings*. Vol. 3 No. 46.
- Pires, D.E., Tom, L.B and David, B.A. 2015. pkCSM : Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J. Med.Chem*. Vol 58.
- Prasetiawati, R., Suherman, M., Permana, B., dan Rahmawati, R. 2021. Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. Vol. 8 No.1. 8-20.
- Pratama, R. 2020. Studi *In Silico* Potensi Senyawa Turunan Kortikosteroid Sebagai Obat COVID-19. *Jurnal Veteriner Nusantara*. Vol. 3 No. 2.

- Priyanti. 2007. Toksisitas Radikal Bebas dalam Sunaryo, H.E.D, *Toksisitas Obat, Zat Kimia dan Terapi Antidotum*. Edisi ke 1. Depok : Leskonfi.
- PubChem, 2020. PubChem [WWW Document]. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22311> (accessed 1.7.21).
- Purnomo, H dan Syamsul, E.S. 2017. *Statistika Farmasi (Aplikasi Praktis dengan SPSS)*. Yogyakarta : CV. Grafika Indah.
- Puspaningtyas, Ayik Rosita. 2013. Docking Molekul dengan Metoda Molegro Virtual Docker dari Ekstrak Air Psidium guajava Linn. dan Citrus sinensis Peels. Sebagai Inhibitor pada Tirosinase untuk Pemutih Kulit. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia (Indonesian Journal of Applied Chemistry)*. Vol. 15. No. 1 : 31-39.
- Qutub, Sayid. 2011. Sumber-Sumber Ilmu Pengetahuan Dalam Al Qur'an Dan Hadits. *Humaniora*. Vol.2 No.2 1339-1350
- Rahman, A.O. 2018. Efek Hepatotoksik Jus Pinang Muda (*Arecha catecha*) pada Tikus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol 30, No 2 : 1-6.
- Reichling, J., Nolkemper, S., Stintzing, F.C., Schnitzler, P. 2008. Impact of Ethanolic Lamiaceae Extracts on Herpesvirus Infectivity in Cell Culture. *Forschende Komplementärmedizin/Research in Complementary Medicine* 15: 313-320.
- Riachi, L.G and De Maria. 2015. *Peppermint* Antioxidants Revisited. *Food Chem* 176 : 72-81.
- Rosales, S and Mendoza. 2020. Will Plant-Made Biopharmaceuticals Play a Role in the Fight Against COVID-19. *Expert Opinion on Biological Therapy*. Vol. 20 No.6.
- Santosa, S. 2014. *Seri Solusi Bisnis Berbasis TI : Menggunakan SPSS untuk Statistik Multivariat*. Jakarta : Elex Media Komputindo.
- Sanusi, A.M., Ari, S., Sarah, I. 2020. Kemampuan Berpikir Kreatif Matematis dengan Menggunakan Education Game Berbantuan Android pada Barisan dan Deret. *Musharafa : Jurnal Pendidikan Matematika*. Vol. 9 No. 3.
- Sari, I.P dan Sriwidodo. 2020. Perkembangan Teknologi Terkini dalam Mempercepat Produksi Vaksin Covid-19. *Majalah Farmasetika*. Vol. 5 No. 5.

- Shaaban H.A., Ghorab A.H., and Shibamoto, T. 2012. Bioactivity of Essential Oils and Their Volatile Aroma Components: Review. *J ESSENT OIL RES* 24: 203-212.
- Shaikh, S., Yaacob, H.B., Rahim, Z.H. 2014. Prospective Role in Treatment of Major Illnesses and Potential Benefits as a Safe Insecticide and Natural Food Preservative of Mint (*Mentha spp*) : A Review. *Asian J Biomed Pharm* 4 : 1.
- Shargel, L dan Andrew. 2012. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. New. York : McGraw-Hill Companies.
- Shereen, M.A., Suliman, K., Abeer, K., Nadia, B., Rabeea, S, 2020. COVID-19 Infection : Origin, Transmission, and Characteristics of Human Coronaviruses. *Journal of Advanced Research*. Vol 24, Hal 91-98.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah : Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Volume II*. Jakarta : Lentera Hati.
- Shivanika, C., Kumar, D., Ragunathan, V., Tiwari, P., dan Sumitha, A. 2020. Molecular Docking, Validation, Dynamics Simulations, and Pharmacokinetic Prediction of Natural Compounds Against the SARS-CoV-2 Main-Protease. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*. Vol. 1 : 1-27.
- Silva, J.K., Pablo, L.B., Kendall, G.B., and William, N.S. 2020. Essential Oils and Antiviral Agents, Potential of Essential Oils to Treat SARS-CoV-2 Infection : An In Silico Investigation. *International Journal of Molecular Sciences*.21 (10).
- Singh, A., Bhat, T. K., dan Sharma, O. P. 2011. Clinical Biochemistry of Hepatotoxicity. *Journal Clinic Toxicol Clinical Pharmacology: Research and Trials*, Vol. 8, No. 4 : 1-19.
- Singh, R., Shushni, M.M., and Belkheir, A. 2015. Antibacterial and Antioxidant Activities of *Mentha piperita* L. *Arabian J Geosci* 8 : 322-328.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal, Edisi 2*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal I*, Edisi Kedua. Surabaya : Airlangga University Press.
- Suhadi, A., Rizarullah, R., dan Feriyani, F. 2019. Simulasi *Docking* Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor *Enzyme Aldose Reductase*. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*. Vol. 6 No.2. 55-65.

- Supandi, Yeni, Merdekawati F., 2018. *In Silico* Study of Pyrozolylaminoquinazoline Toxicity by Lazar, Protox and Admet Predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol 8 (09).
- Supriya, T., Shankar, M., Kavya, S., Dastgiri, J., and Niranjana. B. 2016. A Over View on Molecular Docking. *American Journal of Biological and Pharmaceutical Research*. 3(2).
- Susanti, N. M. P., D. P. D. Saputra, P. L. Hendrayati, I. P. D. N. Parahyangan, I. A. D.G. Swandari. 2018. *Molecular Docking* Sianidin Dan Peonidin Sebagai Antiinflamasi Pada Aterosklerosis Secara *In Silico*. *Jurnal Farmasi Udayana*. Vol 7, No.1.
- SwissADME. 2021. *SwissADME*[WWW Document].. URL <http://swissadme.ch/>. (accessed 28.2.21).
- Syahputra, Gita. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. Vol. 10, No. 1.
- Tallei, T.E., Sefren, G.T., Nurdjannah, J.N., Fatimawali., Billy, J.K., Rinaldi, I., Yunus, E. 2020. Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors : A Molecular Docking Study. *Research Gate*.
- Thomford, N.E *et al.* 2018. Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century : Innovations for Novel Drug Discovery. *Int.J.Mol Sci*. Vol 19.
- Thomsen, R., & Christensen, M. H. 2006. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *Journal of medicinal chemistry*. Vol. 49. No. 11 : 3315-3321.
- Tim FMIPA. 2012. *Tanaman Obat Keluarga (TOGA) Desa Krisik*. Malang : Universits Brawijaya.
- Turista, D., Aesthetica, I., Viol, D., Arif, N, 2020. Distribution of COVID-19 and Phylogenetic Tree Construction of SARS-CoV-2 in Indonesia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. Vol 4.
- Ulrich, S and Nitsch, C. 2020. The SARS-CoV-2 Main Protease as Drug Target. *Elsevier*.
- Umez, T.m Sakata, A., Ito, H. 2001. Ambulation Promoting Effect of *Peppermint* Oil and Identification of its Active Constituents. *Pharmacol Biochem* 69 : 383-390.

- [USDA] United States Department of Agriculture. 2009. *Natural Resources Conservation Service*.
- Wang, J *et al.* 2020. ACE2 Expression by Colonic Epithelial Cells is Associated with Viral, Infection, Immunity, and Energi Metabolism. *medRxiv*.
- [WHO] World Health Organization. 2020. *Novel Coronavirus (2019-nCoV) Advice for the Public*. Switzerland : WHO.
- [WHO] World Health Organization. 2021. *WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard*. Switzerland : WHO.
- Winska, K., Wanda, M., Jacek, L., Malgorzata, G., Anna, C., and Antoni, S. 2019. Essential Oils as Antimicrobial Agents – Myth or Real Alternative. *Molecules*.
- Wit, E., Neelyje, V.D., Darryl, F and Vincent, J.M. 2016. SARS and MERS : Recent Insights into Emerging Coronaviruses. *Nature Reviews*. Vol 14.
- Wu, Canrong *et al.* 2020. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 10(5):766 – 788.
- Wu, J.T., Leung, K and Leung, G.M. 2020¹. Nowcasting and Forecasting the Potential Domestic and International Spread of the 2019-nCoV Outbreak Originating in Wuhan, China : A Modelling Study. *Lancet*. Vol 395 : 689-697
- Xia, B and Xue, K. 2011. Activation and Maturation of SARS-CoV Main Protease. *Protein&Cell*. Vol 2 (4).
- Xia, J., Tong, J., Liu, M., Shen, Y and Guo, D. 2020. Evaluation of Coronavirus in Tears and Conjunctival Secretions of Patients with SARS-CoV-2 Infection. *Journal of Medical Virology*. Vol 92 Issue 6.
- Xiao, J. 2016. Report of the International Symposium on Phytochemical in Medicine and Food. *Food Chem* 113 : 227-232.
- Xiao, F *et al.* 2020. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. *medRxiv*.
- Xu, Z *et al.* 2020. Nelfinavir Was Predicted to be a Potential Inhibitor of 2019-nCov Main protease by an Integrative Approach Combining Homology Modelling, Molecular Docking and Binding Free Energi Calculation. *bioRxiv*.

- Xu *et al.* 2020¹. Nelfinavir is Active Against SARS-CoV-2 in Vero E6 Cells. *chemRxiv*.
- Yamamoto, N., Shutoku, M., Tyuji, H and Naoki, Y. 2020. Nelfinavir Inhibits Replications of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 In Vitro. *bioRxiv*.
- Yan *et al.* 2020. The First 75 Days of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Outbreak : Recent Advances, Prevention, and Treatment. *International Journal of Environment Research and Public Health*. Vol 17, 2323.
- Yang, Yang, Md Sahidul Islam, Jin Wang, Yuan Li &Xin Chen. 2020. Traditional Chinese Medicine In The Treatment Of Patients Infected With 2019-New Coronavirus (Sars-CoV-2): A Review And Perspective. *International Journal Of Biological Sciences*. Vol. 16 (10).
- Yanti, T.S. 2007. Uji Rank *Mann-Whitney* Dua Tahap. *Statistika*. Vol. 7 No. 1 : 55-60.
- Yanti, T.S. 2010. Perluasan Uji Kruskal Wallis untuk Data Multivariat. *Statistika*. Vol. 10 No. 1 : 43-49.
- Zaidan, S., Syamsudin., Deni, R dan Ratna, D. 2019. Aktivitas Senyawa *Sargassum Sp* Sebagai Anti-Aterosklerosis dengan Pembandingan Ligan-Reseptor Hmg-Coa-Reduktase Simvastatin (1HW9) dan Uji Toksisitas Secara *In Silico*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 17. No.1.
- Zhu, N *et al.* 2020. A Novel Coronavirus from Patient with Pneumonia In China. *N.Engl. J.Med.* Vol 382 : 727-733.
- Zubair, M.S., Saipul, M dan Alwiyah, M. 2020. Penambatan Molekuler dan Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa dari Genus *Nigella* Terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim Protease HIV-1. *Jurnal Farmasi Galenika*. Vol. 6 No. 1.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Validasi Reseptor

Replikasi 1

Pose Organizer (5 poses)

File Edit

Table Settings

Poses

	Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	RMSD	HBond
<input checked="" type="checkbox"/>	[04]3WL...	3WL_401 [A]	-104.078	-85.5094	0.329701	-6.22858
<input type="checkbox"/>	[02]3WL...	3WL_401 [A]	-103.318	-31.3939	6.57537	-8.01708
<input type="checkbox"/>	[00]3WL...	3WL_401 [A]	-102.651	-45.0584	6.56852	-8.91828
<input type="checkbox"/>	[03]3WL...	3WL_401 [A]	-99.9272	-81.3522	7.07382	-6.69732
<input type="checkbox"/>	[01]3WL...	3WL_401 [A]	-99.733	-79.3201	6.52646	-5.82873

Replikasi 2

Pose Organizer (5 poses)

File Edit

Table Settings

Poses

	Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	RMSD	HBond
<input checked="" type="checkbox"/>	[03]3WL...	3WL_401 [A]	-104.062	-85.4543	0.329546	-6.22118
<input type="checkbox"/>	[04]3WL...	3WL_401 [A]	-103.149	-31.0949	6.58492	-8.2834
<input type="checkbox"/>	[00]3WL...	3WL_401 [A]	-103.143	-31.1107	6.58112	-8.25957
<input type="checkbox"/>	[01]3WL...	3WL_401 [A]	-99.7543	-79.3971	6.52495	-5.83147
<input type="checkbox"/>	[02]3WL...	3WL_401 [A]	-98.4713	-76.3248	7.18255	-5.41493

Replikasi 3

Pose Organizer (5 poses)

File Edit

Table Settings

Poses

	Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	RMSD	HBond
<input checked="" type="checkbox"/>	[03]3WL...	3WL_401 [A]	-104.075	-85.568	0.324285	-6.2346
<input type="checkbox"/>	[00]3WL...	3WL_401 [A]	-103.152	-31.1075	6.58675	-8.28234
<input type="checkbox"/>	[04]3WL...	3WL_401 [A]	-101.821	-81.6029	2.10724	-3.10089
<input type="checkbox"/>	[01]3WL...	3WL_401 [A]	-100.567	-56.194	7.10727	-11.9942
<input type="checkbox"/>	[02]3WL...	3WL_401 [A]	-98.4852	-76.0153	7.18679	-5.4032

Lampiran 2. Hasil *Docking*

Replikasi 1

Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	HBond
<input type="checkbox"/> [02]CARVONE	CARVONE	-74.3842	-64.4537	0
<input type="checkbox"/> [02]CINEOLE	CINEOLE	-54.6467	-51.8674	0
<input type="checkbox"/> [00]ISOMENTHONE	ISOMENTHONE	-74.2079	-61.1671	-2.96183
<input type="checkbox"/> [04]ISOPULEGOL	ISOPULEGOL	-73.5791	-62.66	-1.39251
<input type="checkbox"/> [00]LIMONENE	LIMONENE	-74.02	-62.8878	0
<input type="checkbox"/> [00]MENTHOFURAN	MENTHOFURAN	-79.0916	-58.0452	-3.0218
<input type="checkbox"/> [00]MENTHOL	MENTHOL	-78.3668	-64.9946	-2.90846
<input type="checkbox"/> [00]MENTHONE	MENTHONE	-74.4347	-60.7853	-3.2372
<input type="checkbox"/> [01]MENTHYLACETATE	MENTHYLACETATE	-85.9274	-73.2397	-4.04424
<input type="checkbox"/> [00]NELFINAVIR	NELFINAVIR	-154.243	-49.3079	-5.51936
<input type="checkbox"/> [00]PULEGONE	PULEGONE	-63.6027	-57.8904	0

Replikasi 2

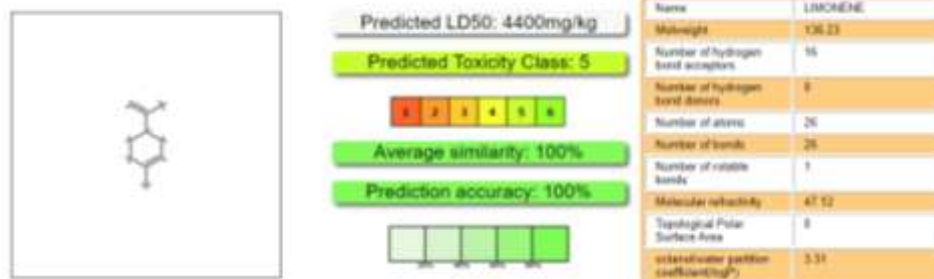
Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	HBond
<input type="checkbox"/> [02]CARVONE	CARVONE	-74.3226	-64.3049	0
<input type="checkbox"/> [04]CINEOLE	CINEOLE	-54.6237	-51.6993	0
<input type="checkbox"/> [00]ISOMENTHONE	ISOMENTHONE	-74.4288	-60.8119	-3.23812
<input type="checkbox"/> [01]ISOPULEGOL	ISOPULEGOL	-72.4046	-61.8274	-1.22945
<input type="checkbox"/> [00]LIMONENE	LIMONENE	-74.0109	-62.8237	0
<input type="checkbox"/> [00]MENTHOFURAN	MENTHOFURAN	-78.8276	-58.2952	-2.28647
<input type="checkbox"/> [00]MENTHOL	MENTHOL	-78.3529	-64.8687	-2.92958
<input type="checkbox"/> [00]MENTHONE	MENTHONE	-74.198	-61.3242	-2.92045
<input type="checkbox"/> [02]MENTHYLACETATE	MENTHYLACETATE	-85.8255	-73.5398	-4.18027
<input type="checkbox"/> [02]NELFINAVIR	NELFINAVIR	-152.087	-66.4802	-1.5742
<input type="checkbox"/> [01]PULEGONE	PULEGONE	-63.5927	-57.8846	0

Replikasi 3

Name	Ligand	MolDock Score	Rerank Score	HBond
<input type="checkbox"/> [02]CARVONE	CARVONE	-74.385	-64.4614	0
<input type="checkbox"/> [04]CINEOLE	CINEOLE	-54.6544	-51.8552	0
<input type="checkbox"/> [02]ISOMENTHONE	ISOMENTHONE	-73.3916	-64.0807	0
<input type="checkbox"/> [03]ISOPULEGOL	ISOPULEGOL	-73.4416	-62.7831	-1.47641
<input type="checkbox"/> [00]LIMONENE	LIMONENE	-73.9879	-62.7853	0
<input type="checkbox"/> [00]MENTHOFURAN	MENTHOFURAN	-78.6779	-57.9282	-2.60716
<input type="checkbox"/> [00]MENTHOL	MENTHOL	-78.295	-64.8287	-2.87726
<input type="checkbox"/> [01]MENTHONE	MENTHONE	-73.3853	-64.0797	0
<input type="checkbox"/> [03]MENTHYLACETATE	MENTHYLACETATE	-83.9813	-67.5877	-3.1652
<input type="checkbox"/> [00]NELFINAVIR	NELFINAVIR	-159.767	-91.9461	-6.52061
<input type="checkbox"/> [00]PULEGONE	PULEGONE	-63.5058	-56.4454	0

Lampiran 3. Hasil Prediksi Toksisitas

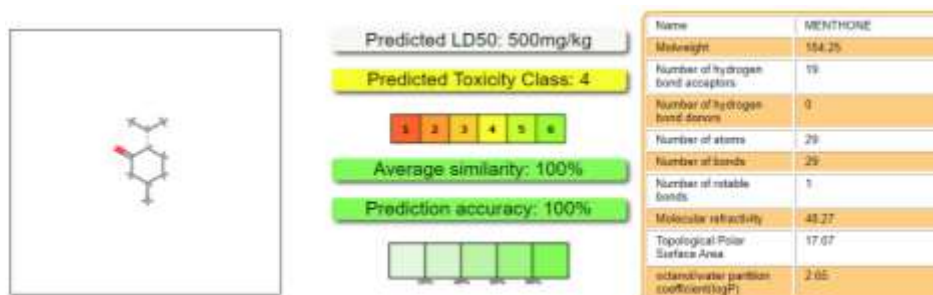
Limonene



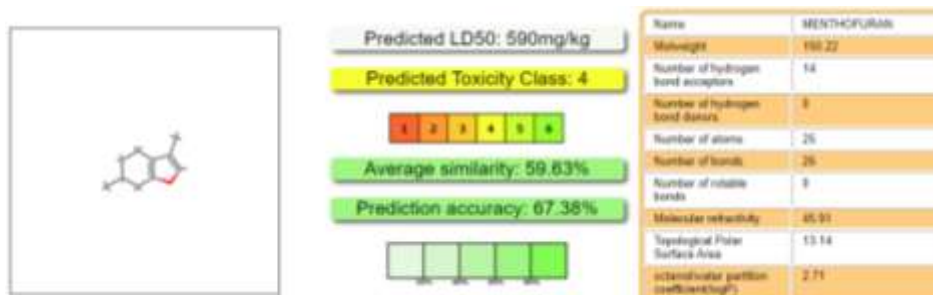
Cineole

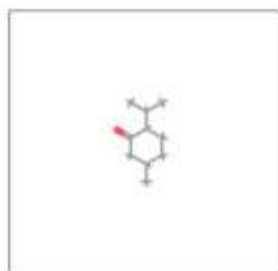


Menthone

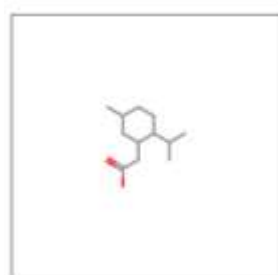


Menthofuran

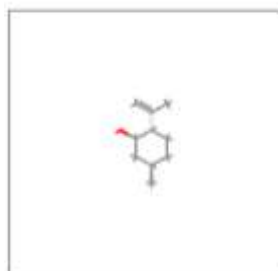


Isomenthone

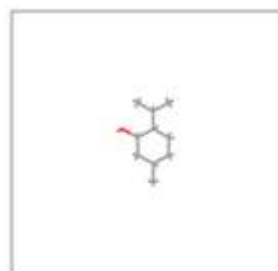
Predicted LD50: 500mg/kg	Name	ISOMENTHONE
Predicted Toxicity Class: 4	Molecular Weight	154.25
<div><div>1</div><div>2</div><div>3</div><div>4</div><div>5</div><div>6</div></div>	Number of hydrogen bond acceptors	13
Average similarity: 100%	Number of hydrogen bond donors	0
Prediction accuracy: 100%	Number of atoms	29
<div><div>100</div><div>100</div><div>100</div><div>100</div></div>	Number of bonds	25
	Number of rotatable bonds	1
	Molecular reactivity	45.27
	Topological Polar Surface Area	17.07
	octanol/water partition coefficient(logP)	2.06

Menthylacetate

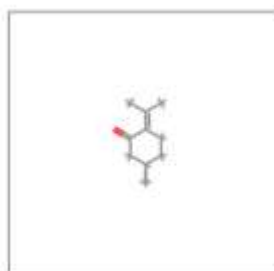
Predicted LD50: 3265mg/kg	Name	O=C(OC1CCC(C)C(C)C1)C(C)C
Predicted Toxicity Class: 5	Molecular Weight	157.25
<div><div>1</div><div>2</div><div>3</div><div>4</div><div>5</div><div>6</div></div>	Number of hydrogen bond acceptors	22
Average similarity: 100%	Number of hydrogen bond donors	0
Prediction accuracy: 100%	Number of atoms	26
<div><div>100</div><div>100</div><div>100</div><div>100</div></div>	Number of bonds	36
	Number of rotatable bonds	3
	Molecular reactivity	57.51
	Topological Polar Surface Area	40.13
	octanol/water partition coefficient(logP)	1.83

Isopulegol

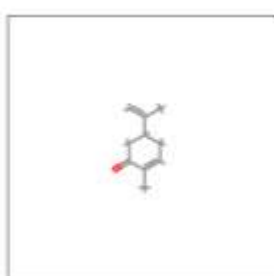
Predicted LD50: 5000mg/kg	Name	ISOPULEGOL
Predicted Toxicity Class: 5	Molecular Weight	154.25
<div><div>1</div><div>2</div><div>3</div><div>4</div><div>5</div><div>6</div></div>	Number of hydrogen bond acceptors	19
Average similarity: 90.48%	Number of hydrogen bond donors	1
Prediction accuracy: 72.9%	Number of atoms	29
<div><div>100</div><div>100</div><div>100</div><div>100</div></div>	Number of bonds	29
	Number of rotatable bonds	1
	Molecular reactivity	48.76
	Topological Polar Surface Area	20.23
	octanol/water partition coefficient(logP)	2.36

Menthol

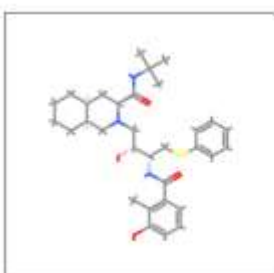
Predicted LD50: 940mg/kg	Name	MENTHOL
Predicted Toxicity Class: 4	Molecular Weight	156.27
<div><div>1</div><div>2</div><div>3</div><div>4</div><div>5</div><div>6</div></div>	Number of hydrogen bond acceptors	21
Average similarity: 100%	Number of hydrogen bond donors	1
Prediction accuracy: 100%	Number of atoms	31
<div><div>100</div><div>100</div><div>100</div><div>100</div></div>	Number of bonds	31
	Number of rotatable bonds	1
	Molecular reactivity	49.23
	Topological Polar Surface Area	20.23
	octanol/water partition coefficient(logP)	2.44

Pulegone

Predicted LD50: 470mg/kg	Name	PULEGONE
Predicted Toxicity Class: 4	Molecular Weight	152.23
<div><div>1</div><div>2</div><div>3</div><div>4</div><div>5</div><div>6</div></div>	Number of hydrogen bond acceptors	17
Average similarity: 100%	Number of hydrogen bond donors	0
Prediction accuracy: 100%	Number of atoms	27
<div><div>100</div><div>100</div><div>100</div><div>100</div></div>	Number of bonds	27
	Number of rotatable bonds	0
	Molecular refractivity	47.8
	Topological Polar Surface Area	17.07
	octanol/water partition coefficient(logP)	2.71

Carvone

Predicted LD50: 1640mg/kg	Name	CARVONE
Predicted Toxicity Class: 4	Molecular Weight	150.22
<div><div>1</div><div>2</div><div>3</div><div>4</div><div>5</div><div>6</div></div>	Number of hydrogen bond acceptors	15
Average similarity: 100%	Number of hydrogen bond donors	0
Prediction accuracy: 100%	Number of atoms	25
<div><div>100</div><div>100</div><div>100</div><div>100</div></div>	Number of bonds	25
	Number of rotatable bonds	1
	Molecular refractivity	47.32
	Topological Polar Surface Area	17.07
	octanol/water partition coefficient(logP)	2.45

Nelfinavir

Predicted LD50: 600mg/kg	Name	NELFINAVIR
Predicted Toxicity Class: 4	Molecular Weight	567.78
<div><div>1</div><div>2</div><div>3</div><div>4</div><div>5</div><div>6</div></div>	Number of hydrogen bond acceptors	53
Average similarity: 49.3%	Number of hydrogen bond donors	4
Prediction accuracy: 54.26%	Number of atoms	85
<div><div>100</div><div>100</div><div>100</div><div>100</div></div>	Number of bonds	88
	Number of rotatable bonds	12
	Molecular refractivity	196.17
	Topological Polar Surface Area	127.2
	octanol/water partition coefficient(logP)	5.47

Lampiran 4. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* Rerank Score Senyawa Monoterpen *Peppermint* pada Reseptor 6M2N

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Senyawa	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rerank Score	Limonene	.230	3	.	.981	3	.734
	Cineole	.364	3	.	.799	3	.112
	Menthone	.382	3	.	.757	3	.015
	Menthofuran	.361	3	.	.806	3	.130
	Isomenthone	.261	3	.	.957	3	.600
	Menthylacetate	.379	3	.	.765	3	.033
	Isopulegol	.381	3	.	.760	3	.022
	Menthol	.378	3	.	.767	3	.039
	Pulegone	.384	3	.	.753	3	.006
	Carvone	.290	3	.	.926	3	.473
	Nelfinavir	.218	3	.	.988	3	.786

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 5. Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Rerank Score Senyawa Monoterpen *Peppermint* pada Reseptor 6M2N

Test Statistics^{a,b}

Rerank Score	
Kruskal-Wallis H	25.055
df	10
Asymp. Sig.	.005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Senyawa

Lampiran 6. Hasil Uji Mann-Whitney Rerank Score Senyawa Monoterpen Peppermint pada reseptor 6M2N

Mann-Whitney Test

Pairwise Comparisons of Senyawa

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig. ^a
Cineole-Pulegone	-4.000	7.895	-.507	.612	1.000
Cineole-Menthofuran	-5.000	7.895	-.633	.527	1.000
Cineole-Menthone	-9.667	7.895	-1.224	.221	1.000
Cineole-Isomenthone	-11.333	7.895	-1.435	.151	1.000
Cineole-Isopulegol	-15.000	7.895	-1.900	.057	1.000
Cineole-Limonene	18.000	7.895	2.280	.023	1.000
Cineole-Nelfinavir	-18.000	7.895	-2.280	.023	1.000
Cineole-Carvone	-21.000	7.895	-2.660	.008	.430
Cineole-Menthol	-24.000	7.895	-3.040	.002	.130
Cineole-Menthylacetate	-28.000	7.895	-3.546	.000	.021
Pulegone-Menthofuran	1.000	7.895	.127	.899	1.000
Pulegone-Menthone	5.667	7.895	.718	.473	1.000
Pulegone-Isomenthone	7.333	7.895	.929	.353	1.000
Pulegone-Isopulegol	11.000	7.895	1.393	.164	1.000
Pulegone-Limonene	14.000	7.895	1.773	.076	1.000
Pulegone-Nelfinavir	-14.000	7.895	-1.773	.076	1.000
Pulegone-Carvone	-17.000	7.895	-2.153	.031	1.000
Pulegone-Menthol	20.000	7.895	2.533	.011	.622
Pulegone-Menthylacetate	24.000	7.895	3.040	.002	.130
Menthofuran-Menthone	4.667	7.895	.591	.554	1.000
Menthofuran-Isomenthone	-6.333	7.895	-.802	.422	1.000
Menthofuran-Isopulegol	-10.000	7.895	-1.267	.205	1.000
Menthofuran-Nelfinavir	-13.000	7.895	-1.647	.100	1.000
Menthofuran-Limonene	13.000	7.895	1.647	.100	1.000
Menthofuran-Carvone	-16.000	7.895	-2.027	.043	1.000
Menthofuran-Menthol	-19.000	7.895	-2.407	.016	.886
Menthofuran-Menthylacetate	-23.000	7.895	-2.913	.004	.197
Menthone-Isomenthone	-1.667	7.895	-.211	.833	1.000
Menthone-Isopulegol	-5.333	7.895	-.676	.499	1.000
Menthone-Limonene	8.333	7.895	1.056	.291	1.000

Menthone-Nelfinavir	-8.333	7.895	-1.056	.291	1.000
Menthone-Carvone	-11.333	7.895	-1.435	.151	1.000
Menthone-Menthol	-14.333	7.895	-1.815	.069	1.000
Menthone-Menthylacetate	-18.333	7.895	-2.322	.020	1.000
Isomenthone-Isopulegol	-3.667	7.895	-.464	.642	1.000
Isomenthone-Limonene	6.667	7.895	.844	.398	1.000
Isomenthone-Nelfinavir	-6.667	7.895	-.844	.398	1.000
Isomenthone-Carvone	-9.667	7.895	-1.224	.221	1.000
Isomenthone-Menthol	-12.667	7.895	-1.604	.109	1.000
Isomenthone-Menthylacetate	-16.667	7.895	-2.111	.035	1.000
Isopulegol-Limonene	3.000	7.895	.380	.704	1.000
Isopulegol-Nelfinavir	-3.000	7.895	-.380	.704	1.000
Isopulegol-Carvone	-6.000	7.895	-.760	.447	1.000
Isopulegol-Menthol	-9.000	7.895	-1.140	.254	1.000
Isopulegol-Menthylacetate	13.000	7.895	1.647	.100	1.000
Limonene-Carvone	-3.000	7.895	-.380	.704	1.000
Limonene-Menthylacetate	-10.000	7.895	-1.267	.205	1.000
Nelfinavir-Menthol	6.000	7.895	.760	.447	1.000
Nelfinavir-Menthylacetate	10.000	7.895	1.267	.205	1.000
Limonene-Nelfinavir	.000	7.895	.000	1.000	1.000
Limonene-Menthol	-6.000	7.895	-.760	.447	1.000
Nelfinavir-Carvone	3.000	7.895	.380	.704	1.000
Carvone-Menthol	3.000	7.895	.380	.704	1.000
Carvone-Menthylacetate	7.000	7.895	.887	.375	1.000
Menthol-Menthylacetate	4.000	7.895	.507	.612	1.000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05.

a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.